

ORSAY
Série A,
N° d'ordre :

175

THÈSES

PRESENTEES

UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

PAR

MACAYA-LIZANO Ana Victoria

1^{ère} THÈSE : PLEUROTUS OSTREATUS (JACQ. EX FRIES)
QUÉLET, FORMES ET ESPECES AFFINES. COMPORTEMENT
CULTURAL ET SYSTÉMATIQUE

2^{ème} THÈSE : Propositions données

Soutenues le 31 JANVIER devant la Commission d'examen

MM. J. CHEVAUGEON Président.

R. HEIM
F. PRÉVOST Examineurs.
S. JOVET
R. CAILLEUX

1975

Nous tenons à adresser ici l'expression de notre profonde gratitude à M. le Professeur Roger HEIM, Membre de l'Institut, Directeur honoraire du Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle, qui a bien voulu nous accepter dans son Laboratoire et inspirer nos recherches. Il nous fait aujourd'hui l'honneur d'appartenir à notre Jury.

M. le Professeur Jean CHEVAUGEON a accepté la Présidence de notre Jury. Nous n'oublions pas que nous lui devons son aimable accueil en France comme boursière étrangère du Gouvernement Français. Il nous a sans cesse guidée par ses conseils et ses encouragements. Nous lui adressons notre très vive et très profonde reconnaissance.

Mme Francine PRÉVOST, Maître-Assistante à la Faculté des Sciences d'Orsay, a bien voulu discuter nos résultats et nous apporter des critiques fécondes; nous l'en remercions très sincèrement.

Notre gratitude va également à Mme Suzanne JOVET, Sous-Directeur au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum, qui a lu notre travail avec toute la patience nécessaire et nous a toujours aidée et encouragée.

Nous devons beaucoup à M. Roger CAILLEUX, dont les compétences dans le domaine des champignons cultivés nous ont été précieuses. Qu'il nous soit permis en cette circonstance de lui dire toute notre gratitude.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme F. PRÉVOST, Mme S. JOVET et M. CAILLEUX qui ont accepté de faire partie de notre Jury.

Auprès de Melle MELENDEZ-HOWELL nous avons toujours trouvé aide et conseil. Nous avons passé à ses côtés toutes nos années de recherche et elle a constitué autour de nous une ambiance stimulante. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre reconnaissance.

Nous ne saurions oublier de remercier M. Alioune DIOP qui a collaboré avec nous dans les tâches matérielles, Mme Renée HACCARD qui a effectué le tirage des photographies, ainsi que toutes les personnes du laboratoire qui, d'une façon ou d'une autre, nous ont aidée dans la réalisation de nos recherches.

Nous tenons à remercier M. le Professeur G. BERNARDI, de l'Institut de Biologie Moléculaire (Université de Paris VII) qui nous a permis l'accès à la calculatrice Olivetti Programma sur laquelle nous avons effectué tous nos calculs.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).



PLEUROTUS OSTREATUS (JACQ. EX FR.) QUÉLET,
FORMES ET ESPECES AFFINES.
COMPORTEMENT CULTURAL ET SYSTÉMATIQUE.

par Ana Victoria MACAYA-LIZANO *

Le *Pleurotus ostreatus*, Basidiomycète de la famille des Tricholomacées, connu comme destructeur du bois, est un excellent comestible, cultivé depuis des temps déjà anciens. En 1886, PECK, en se référant aux travaux de KALCH-BRENNER en Hongrie, mentionne sa culture en jardins «par arrosage fréquent des souches d'orme sur lesquelles il pousse».

MATRUCHOT, en 1910, réalise la culture du mycélium en tubes et parvient au stade de la fructification. ETTER, en 1929, obtient des carpophores en bocal sur un mélange de sciure de pin, d'extrait de malt et de farine de maïs. NISHIKADO et MIYAWAKI (1943), KOCH (1958) et TOOLE le cultivent sur des rondins de chêne. BLOCK, TSAO et LUNGWA (1958) et EUGENIO et ANDERSON (1968) obtiennent des fructifications sur de la sciure de balsa ou de tremble enrichie de farine d'avoine ou de soja.

L'intérêt porté à cette espèce s'est accru à partir de 1959, grâce aux travaux des chercheurs hongrois dirigés par E. VESSEY (1969). A partir de ce moment, la culture industrielle du *P. ostreatus* dont l'historique a été fait par STEINBECK (1973) et EGER (1973) s'engage sur une voie prometteuse. La production sur une grande échelle se développe alors en Europe, dans le courant de l'hiver 1970-71 en Hollande, en 1971-72, en France, dans la région niçoise et la vallée de la Loire.

Depuis 1971, le Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle s'est aussi intéressé à la culture des Pleurotes en suivant plusieurs directions de recherches : l'amélioration des techniques culturales, la domestication d'un plus grand nombre de ces espèces et, enfin, l'obtention de données systématiques et physiologiques de caractère plus fondamental. C'est pourquoi, dans le cadre de ces travaux, nous avons entrepris des recherches portant sur le *P. ostreatus* et ses formes affines.

Dans la nature, ce champignon présente des caractères assez variables. La plupart des mycologues s'accordent pour qualifier son apparition de tardive à l'automne, voire hivernale. En effet, en hiver, il présente des chapeaux chamois, souvent sombres et parfois teintés de violet qui, avec l'âge, peuvent devenir grisâtres ou brunâtres. En saison tempérée ou chaude, de mai à octobre, ou même novembre, apparaissent des formes physionomiquement très proches mais généralement plus claires, sans nuances violacées. Leur position systématique

* Laboratoire de Cryptogamie du M.N.H.N., 12 rue de Buffon 75005 Paris.

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

reste imprécise puisque, selon les déterminateurs, elles sont rapportées, soit au *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quél., dont elles ne seraient qu'une variante très pâle, soit à d'autres espèces mal caractérisées.

Cette variabilité des caractères morphologiques peut être due à la diversité des milieux naturels ou résulter de l'existence de races ou même d'espèces différentes, éventuellement intéressantes pour les cultivateurs de champignons. Pour choisir entre ces deux hypothèses, nous avons isolé en culture pure un ensemble de souches à partir de carpophores rapportés au *P. ostreatus* ou à ses formes voisines, et nous avons contrôlé la stabilité des différents caractères lorsqu'on fait varier la composition du milieu ou la température ambiante.

Cette méthode présente un intérêt d'ordre systématique et d'ordre pratique. L'analyse de la morphologie et des conditions d'apparition des fructifications d'une part, l'étude des exigences thermiques et nutritionnelles d'autre part, nous ont fourni des indices suffisants pour séparer certaines formes présentes dans notre groupe initial du complexe *P. ostreatus* et, à l'aide des caractéristiques établies, pour définir leurs positions systématiques réelles.

Les recherches réalisées permettent de fournir, tant aux expérimentateurs qu'aux cultivateurs, une collection de formes et d'espèces avec des données sur leurs exigences thermiques et nutritionnelles. Les études systématiques, indispensables pour contrôler les déterminations, nous ont amenée à observer, parallèlement à ce travail, les caractéristiques morphologiques des éléments de reproduction.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. SOUCHES

Les caractéristiques des souches étudiées dans ce travail, toutes issues de semis multispores, figurent dans les tableaux 1 et 2. Le tableau 1 fournit les références concernant les espèces étudiées. Le tableau 2 présente les diverses souches de l'espèce *P. ostreatus* et des formes affines utilisées dans ce travail.

Tableau 1. — Diverses espèces de *Pleurotus* étudiées (Souches de la Mycothèque du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris).

	N ^o mycothèque	Isolement à partir de	Provenance	Déterminé par	Année
<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paul ex Pers.) Gillet	933	spores	région parisienne	R. Heim	1951
<i>Pleurotus eryngii</i> (D.C. ex Fr.) Quél. subsp. <i>nebrodensis</i> Inzenga	1733	hyménium	Iran	R. Heim	1960
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fr.) Quél.	83	chair	région parisienne	R. Heim	1949
<i>Pleurotus ulmarius</i> (Fr. ex Bull.) Quél.	1116	chair	région parisienne	R. Heim	1952

Tableau 2. — Souches de *Pleurotus ostreatus* et des formes affines employées.

* Souches figurant au catalogue de la Mycothèque du Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

** Souches isolées pour les besoins de cette étude.

N° des souches	Isolement à partir de	Provenance	Déterminé par	Année	Notes
*313	chair		R. Heim	1947	<i>Pleurotus ostreatus</i> forme à chapeau marron foncé
*83	chair	région parisienne	R. Heim	1949	Forme typique
*1271	spores	région parisienne	R. Heim	1953	var. <i>colombinus</i>
*1272	hyménium	région parisienne	R. Heim	1953	var. <i>colombinus</i>
*1273	chair	région parisienne	R. Heim	1953	var. <i>colombinus</i>
*40	spores	Hôp. St Jacques Paris	R. Cailleux	1971	var. <i>colombinus</i>
**306	—	origine commerciale	—	—	Forme à chapeau marron foncé
**120	—	origine commerciale	—	—	Forme à chapeau marron foncé
**4-5	spores	Forêt de Malvoisine	R. Cailleux	1970	Formes à chapeau bleuté
**26-28	spores	Forêt de Malvoisine	R. Cailleux	1971	Formes à chapeau bleuté
**29-34	spores	Forêt de Fontainebleau	Indéterminé	1971	Formes affines Formes à chapeau clair
**49-53	spores	Forêt de Malvoisine	Indéterminé	1972	Formes à chapeau clair
**37	spores	Forêt de Fontainebleau	Indéterminé		Formes à chapeau clair

II. MILIEUX DE CULTURE

a) Milieux utilisés pour les expériences en conditions semi-stériles

Le pleurote est un champignon lignivore : pour le cultiver, plusieurs auteurs ont essayé des milieux composés de sciure de bois ou de paille (BLOCK et al. 1958; EUGENIO et ANDERSON 1968; EGER 1967). Utilisant les résultats de CAILLEUX, DIOP et MACAYA (1973) et CAILLEUX (communication personnelle), nous avons employé un mélange homogénéisé de paille de blé (60 %) broyée pour favoriser l'absorption d'eau et provoquer un défibrage au moins grossier, sciure de peuplier (20 %) et grains d'avoine (20 %). L'avoine, riche en phosphates est ajoutée pour satisfaire les besoins élevés du pleurote en phosphore (BLOCK et al. 1959)

Le mélange est amené à une humidité voisine de 85 %, réparti en bocaux de verre de 500 cc, pleins et fermés pour éviter l'évaporation de l'eau et maintenir le taux de CO_2 nécessaire à l'envahissement mycélien; le tout est stérilisé à l'autoclave pendant deux heures à 125°C . Le pH après stérilisation est de 6,6 et chaque bocal contient environ 75 g de matière première sèche.

Dans les expériences concernant l'effet de sources complémentaires d'azote ou de carbone, les corps purs incorporés sont introduits en solution dans le milieu à l'aide de seringues munies de filtres millipores, de porosité $0.22\ \mu\text{m}$.

b) Milieux utilisés pour les expériences en conditions stériles

Nous avons utilisé comme témoin la maltea Moser à 2 %, gélosée à 2 %, répartie à raison de 6 ml ou 8 ml par tube à essais de $18 \times 1,8\ \text{cm}$.

Après vingt minutes de stérilisation à 120°C , les tubes sont placés de façon à obtenir un biseau plan de 4 ou 10 cm de longueur, selon le volume de milieu dans chaque tube.

Utilisant comme référence les travaux de VOLTZ (1969, 1972) sur la nutrition des diverses Agaricales (y compris le *Pleurotus*), de IMPENS (1967) sur la croissance de *Volvariella volvacea*, de ROBINS (1950) et YUSEF (1953) sur les besoins nutritifs de quelques Basidiomycètes, nous avons préparé un milieu minéral de base, additionné de sources de carbone et d'azote de nature et de concentration variables, dont nous voulions étudier les effets. Le travail de TOUZÉ-SOULET (1964) nous a aidé dans la méthode à suivre.

1. Milieu de base

	Concentration pondérale (par l d'eau distillée)
KH_2PO_4	1,5 g
$\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$	0,8 g
$\text{Mg SO}_4\ 7\ \text{H}_2\text{O}$	2,0 g
$\text{Fe SO}_4\ 7\ \text{H}_2\text{O}$	0,02 g
$\text{Mn SO}_4\ 7\ \text{H}_2\text{O}$	0,02 g
$\text{Zn SO}_4\ \text{H}_2\text{O}$	0,02 g
Bacto-Agar	20,0 g

2. Sources d'azote

Au milieu de base, complété avec du glucose à une concentration finale de 10 g/l, nous avons ajouté de l'azote sous des formes chimiques diverses, à une concentration de 0,015 M en azote (ASCHAN 1952, VOLTZ 1972).

Source d'azote	Concentration pondérale (g/l)
Azote inorganique	
Na NO ₃	1,26
Na NO ₂	1,03
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,00
Azote organique	
1. acides aminés :	
DL-ac. aspartique	2,0
DL-sérine	2,0
L-lysine	1,09
2. amides	
L-asparagine	1,12
3. source complexe :	
Bacto-peptone	1,31

3. Sources de carbone

Au milieu de base, complété cette fois avec de l'acide aspartique à une concentration de 0,015 moles/l, nous avons ajouté les sources carbonées suivantes à une concentration de 0,143 M en carbone (BLOCK 1959, VOLTZ 1972).

Sources de carbone	Concentration pondérale (g/l)
Polysaccharide :	
— amidon	9
Disaccharides :	
— maltose	10
— saccharose	9,5
Monosaccharides :	
1 — Hexoses	
D (+) glucose	10
D (-) fructose	10
2 — Pentoses	
D (+) xylose	10

Afin d'éviter les risques de caramélisation des sucres et la formation d'un brunissement dû à la réaction de Maillard (IMPENS 1967), le pH de tous les milieux a été ramené à 5,3 avant la stérilisation (115° pendant 20 minutes).

III. CONDITIONS DE CULTURE

Pour ensemençer les milieux, nous avons prélevé des inoculum de tailles identiques dans les parties jeunes de cultures mycéliennes obtenues sur agar-malté à 2 % et nous les avons déposés à l'extrémité inférieure du biseau gélosé.

Différents auteurs (LONG et HARSCH 1918, KOCK 1958, BLOCK et al. 1959, YUSEF et ALLAM 1967, GYURKO 1972) ont prouvé que la lumière était nécessaire pour obtenir la fructification du *Pleurotus ostreatus*. Nous avons donc éclairé toutes nos cultures (tubes Sylvania Grolux), de façon à obtenir une illumination minimale de $180 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ pendant douze heures sur vingt-quatre.

a) Expériences en conditions semi-stériles

Ensemencés de larges fragments de cultures sur milieu gélosé, les bocaux sont laissés en étuve à $22-24^\circ\text{C}$, à l'obscurité, jusqu'à complet envahissement du substrat (soit deux à trois semaines), puis ouverts et transférés dans des enceintes climatisées aux températures choisies pour obtenir la fructification. On notera que les conditions stériles primitives ne sont plus respectées, les bocaux étant ouverts et leur surface largement exposée à l'air extérieur.

Outre le maintien d'une hygrométrie ambiante comprise entre 75 et 90 %, des bassinages d'eau distillée ont permis de conserver une humidité suffisante dans le substrat de culture.

L'aération a été distribuée de telle façon que le taux de CO_2 ne dépasse pas 0,05 % dans l'atmosphère des enceintes de culture, pour éviter la malformation des carpophores (BLOCK 1959, CAILLEUX et al. 1973).

b) Expériences en conditions stériles

Les températures de 10, 15, 20 et 25°C des différentes expériences ont été obtenues dans des étuves à thermostat avec une précision de régulation de $\pm 1^\circ\text{C}$.

Pour détecter le développement d'éventuelles contaminations, qui auraient pu survenir en raison des délais de stérilisation réduits dans certaines expériences, nous avons pris la précaution de laisser séjourner les tubes de milieu une semaine à 25°C avant l'ensemencement.

Une fois les cultures ensemençées, avant de les placer dans des enceintes climatisées, nous les avons soumises à la température de 25°C , en étuve pendant deux jours, afin de régulariser le déclenchement de leur croissance mycélienne.

IV. TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

Nos études ont été faites sur des carpophores fixés à l'aide du mélange de Flemming pendant vingt-quatre heures et lavés pendant vingt-quatre heures. Les coupes, longitudinales et transversales, d'une épaisseur de l'ordre de $5 \mu\text{m}$, ont été colorées par l'hématoxyline ferrique. Nous nous sommes servie, en outre, du bleu de toluidine, du bleu de crésyle, du Soudan III, du rouge neutre et du rouge Congo.

COMPORTEMENT CULTURAL

I. FRUCTIFICATION EN CONDITIONS SEMI-STÉRILES

1. Conditions d'étude

Au matériel provenant de la Mycothèque du Muséum National d'Histoire Naturelle, sont venues s'ajouter les récoltes de R. CAILLEUX effectuées dans les forêts de la région parisienne, sur du bois mort d'essences variées : hêtre, bouleau, peuplier. Certains exemplaires correspondent aux descriptions les plus courantes du *Pleurotus ostreatus*, d'autres s'en écartent un peu par la couleur très claire de leurs chapeaux mais restent encore dans les limites des variations généralement attribuées à cette espèce.

Dans la nature, les carpophores des différentes souches apparaissent à des moments divers de l'année. Cette variabilité dans l'époque de fructification nous a conduite à supposer une influence de la température. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons choisi de placer les cultures sur milieu pailleux à 13°C d'une part, et à 20°C, d'autre part.

Dans nos observations relatives à la morphologie des carpophores, nous avons tenu compte du fait que les fructifications apparues se sont développées sur une surface horizontale (position qui favorise l'élongation du pied et modifie parfois l'aspect du chapeau) alors que, dans la nature, elles se développent généralement sur les parties obliques et verticales du support, ce qui favorise la formation de touffes à pied réduit, excentrique.

Dans cette expérience, nous avons utilisé toutes les souches mentionnées dans le tableau 2, sauf la série 1271 à 1273 et les deux souches d'origine commerciale.

2. Résultats et discussion

En culture, les disparités notées sur le matériel sauvage s'affirment, révélant entre certaines souches des ressemblances ou des différences, évidentes mais souvent délicates à traduire.

A 13°C, l'ensemble des souches étudiées fructifie dans des délais compris entre 30 et 35 jours. A 20°C, une partie des souches réduit ce délai à 25-30 jours et manifeste une grande fertilité, alors que l'autre partie a besoin de 55 à 65 jours et apparaît beaucoup moins prolifique.

Dans les deux cas, à 13°C et à 20°C, la couleur des chapeaux peut varier considérablement au cours de leurs développements, d'une part, et sous l'influence des conditions ambiantes, éclairément et humidité, d'autre part.

A 20°C, ces variations affectent peu les primordiums des souches précoces, qui demeurent assez clairs, au plus chamois. A 13°C, certaines de ces souches développent parfois (sans que les raisons qui président à cette modification aient été nettement établies) des primordiums très foncés, marron, dont la couleur persiste jusqu'à maturité et s'atténue avec la sénescence du chapeau.

Les primordiums des souches dont la fructification est lente à 20°C sont toujours très foncés, quelle que soit la température : noir-bleuâtre ou noir-verdâtre; mais si les jeunes chapeaux conservent le plus souvent une teinte plutôt sombre, bistrée, leur maturation s'accompagne parfois d'une décoloration qui peut aller jusqu'à les faire confondre, de ce point de vue, avec les souches du groupe précédent (à 13°C notamment).

Les variations de couleur, délicates à préciser, conduisent à ne considérer ce critère qu'avec beaucoup de prudence pour différencier les types observés. On retiendra que c'est surtout au stade primordium que les couleurs sont les plus stables.

Les premiers résultats permettent déjà de grouper les souches selon leurs affinités les plus évidentes, en différents types que nous distinguerons conventionnellement par des lettres :

Type A (souches n^{os} 4-5, 26 à 28) : récolté en décembre 1970 et 1971, sur tronc de bouleau mort. Primordiums bleutés; chapeau mûr foncé, ardoisé, souvent teinté de lilacin, puis marron grisâtre violacé, à marge le plus souvent entière (Pl. I, fig. A).

Type B (souches n^{os} 313 et 83) : récolté en octobre 1947 et décembre 1949; support inconnu. Primordium marron foncé; chapeau marron sans nuance lilacine, puis marron grisâtre, à marge régulièrement lobée (Pl. I, fig. B).

Type C (souche n^o 40) : récolté en décembre 1971; support inconnu. Identifié au *P. ostreatus* var. *colombinus* Qué. en raison de sa vive couleur violacée, d'ailleurs vite disparue après la récolte sur l'exemplaire encore frais; ce champignon produit en culture des fructifications très proches par leur aspect et leur couleur, de celles des souches du type A (Pl. I, fig. C).

Type D (souches n^{os} 29 à 34) : récolté en octobre 1972, sur tronc de hêtre mort. Chapeau de dimensions moyennes, largement étalé, un peu creusé à l'insertion du pied, puis bombé; marge régulière, plane ou à peine relevée, régulièrement arrondie; le plus souvent clair, crème à chamois pâle, mais parfois marron grisâtre clair; chair mince et tendre. Pied net, plutôt grêle, conique, allongé, étroit à la base, franchement excentrique à latéral; chair souvent dure et tenace (Pl. I, fig. D).

Type E (souches n^{os} 49 à 53) : récolté en juin 1972 et mai 1973, sur tronc de tilleul mort. Carpophores de dimensions souvent importantes. Chapeau d'abord étalé, plan, à peine creusé à l'insertion du pied; marge incurvée, puis ondulée, récurvée; à maturité, le chapeau est fortement récurvé et comme festonné, exposant largement les lames à la vue; couleur proche de celle du type D, mais souvent un peu plus foncée, en particulier à maturité; chair d'épaisseur moyenne. Pied net, plutôt court, trapu, robuste, cylindrique, le plus souvent excentrique, voire presque central, rarement latéral (Pl. II, fig. A, B).

Type F (souche n^o 37) : récolté en octobre 1971, sur tronc de hêtre mort. Carpophores moyens à grands. Chapeau plan ou à peine bombé; marge droite, puis récurvée en liseré, non ou très rarement ondulée; toujours clair; chair tendre. Pied épais, de longueur variable, toujours franchement latéral, mou; chair plutôt tendre (Pl. II, fig. C). Ce type est particulièrement sensible aux défaillances de l'éclaircissement et de l'aération (qui entraînent alors un allongement excessif du pied), contrairement aux types D et E assez tolérants à de telles variations.

Les souches qui fructifient mieux à température basse appartiennent aux types A, B et C; ces trois types ont aussi en commun la couleur foncée de leurs carpophores. Les types D, E et F fructifient mieux à 20°C et, même s'ils diffèrent manifestement entre eux par leurs morphologies, ils ont en commun la couleur toujours claire des carpophores. On remarquera que toutes les souches issues de carpophores clairs, récoltées dans la nature pendant une période plutôt chaude, sont les plus éloignées de la définition du *P. ostreatus*; en outre, elles se comportent mieux à la température la plus élevée. Les autres, correspondant toutes à des récoltes effectuées en saison fraîche, fructifient plus lentement à cette même température, et développent alors moins de carpophores dont beaucoup avortent.

A 13°C, l'inégalité dans les délais de fructification disparaît, mais les différences morphologiques entre les souches subsistent. Les distinctions établies entre les types A, B et C, à partir de carpophores obtenus à 13°C, reposent sur des différences mineures auxquelles nous serions tentée d'attribuer un caractère variétal plutôt que spécifique.

Entre les types D, E et F, les dissemblances observées à 20°C et à 13°C sont plus profondes. Le type D se singularise par son chapeau régulier et orbiculaire, à chair mince, plus vite molle et flétrie, par son pied grêle et rétréci à la base. La robustesse des carpophores mûrs du type E, fortement récurvés, leur donne un port bien particulier. Le type F est caractérisé par un pied toujours latéral, même si le carpophore se développe sur un plan horizontal, dans une position qui a pour effet d'atténuer considérablement l'excentricité du pied chez tous les autres types.

Tableau 3. — Caractéristiques des types différenciés parmi les souches mises en culture sur milieu pailleux.

Type	Couleur du chapeau	Marge	Pied	Température de fructification
A	Foncé, ardoisé teinté de lilacin marron grisâtre violacé	entière	excentrique court	
B	Marron foncé sans nuance lilacine	régulièrement lobée	excentrique court	Ne fructifie plus au dessus de 15°C
C	Marron foncé très violacé	entière	excentrique court	
D	Clair, crème à chamois pâle, parfois marron ou grisâtre clair	régulière plane ou à peine relevée	grêle, conique allongé excentrique à latéral	
E	Crème à chamois foncé, parfois marron	incurvée puis onduleuse et récurvée	court presque central	Capable de fructifier au dessous de 15°C
F	Toujours crème clair	droite, puis récurvée en liseré	toujours latéral	

3. Conclusions

Certaines souches, celles qui sont identifiables au *P. ostreatus sensu stricto* (types A, B et C), se comportent mieux à température basse, de l'ordre de 13°C; l'importance des différences observées dans la forme de leurs carpophores est insuffisante pour leur attribuer une valeur autre que celle de simples fluctuations au sein d'une même espèce.

Chez les autres souches (types D, E et F) les différences, plus marquées que précédemment, peuvent conduire à des distinctions d'ordre spécifique. L'élévation de la température ne constitue plus un obstacle majeur à la fructification et semble même la favoriser.

Dans la pratique, on admet que, pour les souches de *P. ostreatus* habituellement cultivées (exception faite du *P. «florida»*), la température de 15°C ne doit pas être dépassée afin d'assurer une récolte convenable. Cette condition implique, dans le cas de culture de surface, une limitation de la période de production aux époques fraîches de l'année, ou alors une climatisation onéreuse. Par leur bon comportement à des températures plus élevées, certaines des souches des types D, E ou F pourraient permettre d'étaler les possibilités de culture de surface sur les diverses périodes de l'année.

II. CROISSANCE ET FRUCTIFICATION EN TUBES A ESSAI

1. Le choix des critères physiologiques

Pour étudier le comportement *in vitro* de souches diverses, il importe de choisir des critères permettant d'apprécier valablement leur état physiologique et de vérifier ses modifications éventuelles : l'aspect morphologique et la vitesse de croissance mycélienne.

a) L'aspect morphologique

Il constitue un des reflets de l'état physiologique d'un champignon. Si l'on considère que le comportement ordinaire d'un organisme sur son substrat naturel correspond le mieux à son état physiologique normal, on qualifiera de bon milieu une substance tendant à lui faire extérioriser des caractères proches de ceux qu'il présente dans la nature (JOLY 1964). Dans nos expériences, la maltée à 2 %, gélosée à 2 % nous a donné de très bons résultats, une croissance mycélienne abondante et une bonne fructification. Les descriptions particulières à chaque souche, en ce qui concerne l'aspect morphologique, sont résumées dans le tableau 5.

b) La croissance mycélienne

Pour évaluer la croissance mycélienne nous avons le choix entre deux critères : mesurer la vitesse de progression du front de croissance des cultures sur milieu gélosé ou estimer le poids sec du mycélium produit en milieu liquide.

Le poids sec du mycélium n'est pas un critère de valeur sûre; il est souvent en conflit avec l'aspect morphologique (JOLY 1964). Sur le milieu liquide, la croissance peut être limitée par la disponibilité de l'oxygène et la composition du milieu peut être altérée par des produits du métabolisme qui risquent alors de nuire plus directement au mycélium immergé. En revanche, sur milieu solide, la

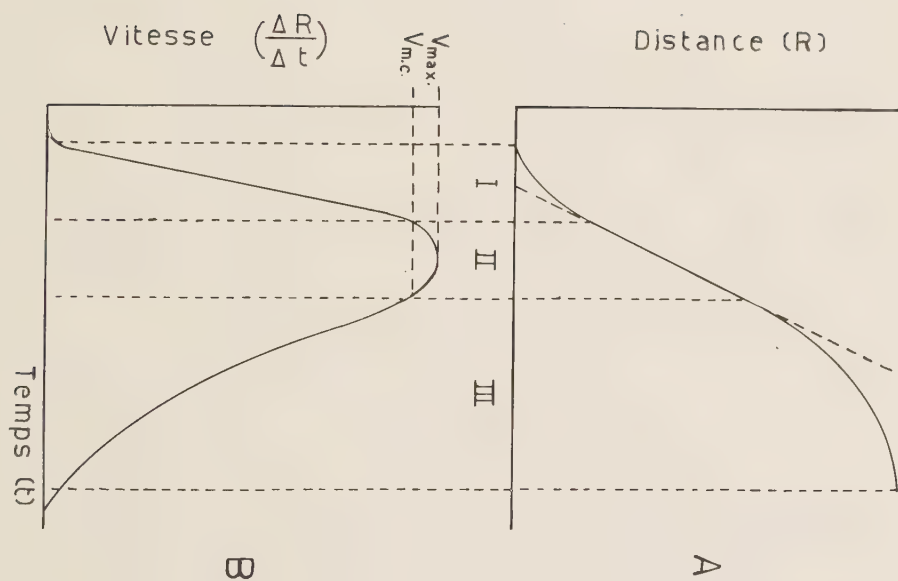


Fig. 1 — Courbes idéalisées représentant la vitesse de croissance.

I : Phase d'accélération. — II : Phase à vitesse de croissance constante. — III : Phase de ralentissement.

A. Courbe intégrale de croissance $R = f(t)$

B. Courbe dérivée de croissance $v_{max} = \frac{\Delta R}{\Delta t} = g(t)$

culture est naturellement aérée et la vitesse de croissance est plus élevée que celle de la diffusion des produits métaboliques dans le milieu : quand le mycélium croît, il le fait donc sur du matériel frais et en dehors de ses produits métaboliques (RYAN, BEADLE et TATUM 1943). Sur milieu liquide enfin, on ne peut ordinairement faire qu'une seule mesure par culture; sur milieu solide, principalement en tubes, on peut faire sur chacun d'entre eux autant de mesures qu'on le désire.

L'utilisation de la vitesse de croissance linéaire sur milieu solide, confirmée par une extériorisation des caractères morphologiques normaux, nous a paru plus représentative du comportement du champignon. L'estimation de la vitesse de croissance linéaire peut se faire sur des cultures réalisées, soit en boîtes de Pétri, soit en tubes. Il semble que la vitesse de croissance radiaire observée dans la progression bi-dimensionnelle des thalles en boîtes de Pétri est le plus souvent du même ordre de grandeur que la vitesse linéaire extériorisée dans les tubes (JOLY, JOLY et BUI-THU-CUC 1971). Nous avons donc préféré faire nos mesures sur des tubes à essai, ceux-ci permettant de réaliser un plus grand nombre de mesures dans un temps plus long. Comme méthode de contrôle nous avons choisi celle de RYAN, BEADLE et TATUM (1943), c'est à dire la mesure, journalière dans notre cas, de l'avancement linéaire du front mycélien.

L'allure d'une courbe expérimentale décrivant l'avancement du front en fonction du temps est approximativement sigmoïde (fig.1).

D'après MANDELS (1965) et JOLY et al. (1971), nous pouvons, arbitrairement, reconnaître après la période de latence, trois phases distinctes dans la courbe de croissance proprement dite. Une première phase d'accélération apparaît suivie d'une phase où l'avancement du front mycélien a lieu à une vitesse à peu près constante, et enfin la troisième phase, de ralentissement. On peut exprimer cette croissance comme une fonction du temps :

$$R = f(t)$$

Au lieu d'exprimer l'avancement du front mycélien en fonction du temps, on peut aussi calculer la vitesse d'avancement du front,

$$v_t = \frac{\Delta R}{\Delta t} = g(t)$$

qui est aussi une fonction du temps. Les figures 1A et 1B montrent, idéalisés, les deux types de représentations des données expérimentales.

Pour caractériser la croissance on peut définir deux sortes de vitesses :

1 - La vitesse maximale de croissance qui est égale à la pente de la tangente au point d'inflexion de la courbe intégrale $R = f(t)$, ou à la valeur maximale de la courbe dérivée $v_{\max} = \frac{\Delta R}{\Delta t} = g(t)$

2 - La vitesse moyenne de croissance qui peut être calculée dans la deuxième phase de croissance, où la vitesse est plus constante. Ceci associe la deuxième partie de la courbe intégrale de croissance $R = f(t)$ à une droite $R = a + v_{mc} t$. Ce deuxième type de représentation revient à considérer la région II de la courbe dérivée $v_{\max} = \frac{\Delta R}{\Delta t}$ comme une horizontale, avec une valeur de vitesse moyenne v_{mc} .

Si la vitesse moyenne sous-estime la vitesse réelle de croissance du champignon, elle diminue les erreurs expérimentales par la mesures de plusieurs points

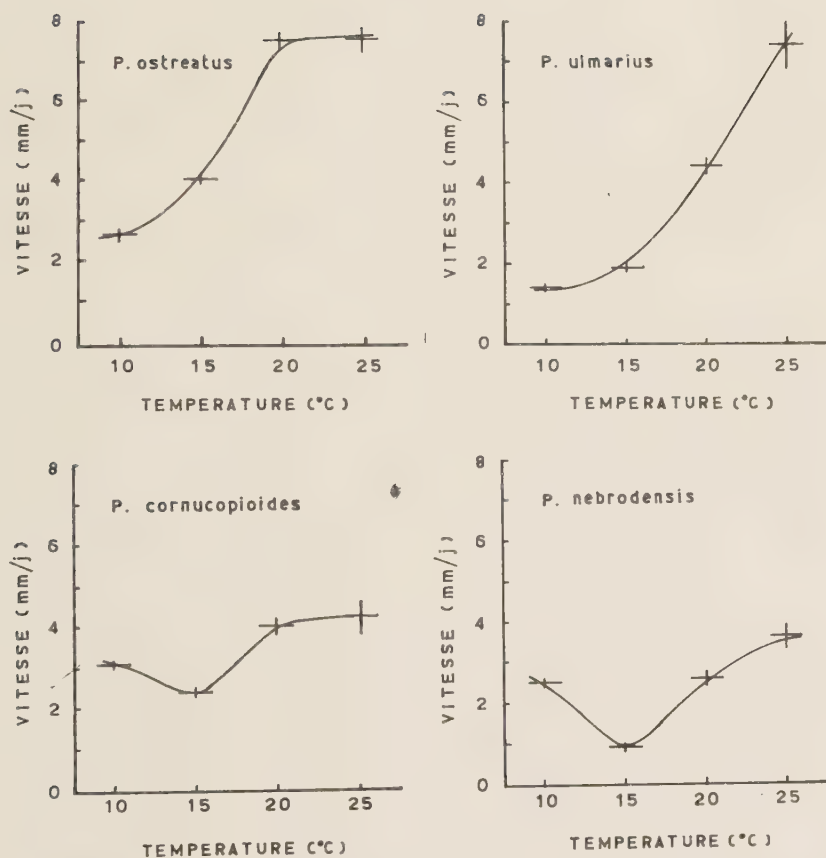


Fig. 2 — Variation de la vitesse de croissance mycélienne (mm/j) de différents Pleurotes selon la température.

qui peuvent être traités statistiquement dans une seule expérience. Par contre, si la vitesse maximale de croissance donne une meilleure idée de l'état physiologique du champignon, elle est sujette à des erreurs plus importantes puisqu'elle dépend d'un seul point sur la courbe dérivée de croissance.

En raison de la grande quantité des mesures à effectuer, l'adoption de la deuxième solution est la seule raisonnable dans le cadre de nos essais et de nos moyens d'analyse. Nous avons donc choisi la représentation intégrale $R = f(t)$, et, comme vitesse de croissance, la vitesse moyenne v_{mc} , mesurée d'après un calcul de régression linéaire (moindres carrés) effectué sur les points expérimentaux situés dans la deuxième phase de croissance.

Pour prouver la sensibilité de la méthode aux variations des conditions externes, nous avons fait pousser différentes espèces de *Pleurotus* (tableau 1) sur le même milieu (maltéa à 2 % gélosée à 2 %) mais à diverses températures : 10, 15, 20 et 25°C, à la lumière naturelle du jour.

Les résultats apparaissent groupés dans la figure 2 et le tableau 4 (en faisant un test T de Student sur les résultats du tableau 4, nous vérifions que les différences de vitesse apparues entre les espèces sont significatives).

Chez le *P. ostreatus* et le *P. ulmarius*, la vitesse de croissance réagit proportionnellement à la température dans nos limites expérimentales. Le *P. cornucopioides* et le *P. eryngii* subsp. *nebrodensis* ont un comportement particulier vis-à-vis de ce facteur; à 15°C leur vitesse de croissance est plus lente qu'à 10°C, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que ces deux espèces fructifient alors abondamment, cessant pratiquement toute croissance mycélienne.

Si les différences de vitesse de croissance observées sont assez importantes, on peut s'attendre, à priori, à ce que la méthode choisie soit suffisamment sensible pour déceler des différences plus fines, non seulement au niveau interspécifique, mais aussi entre les souches d'une même espèce.

Cette expérience nous a montré que, à 15°C, les écarts de vitesse de croissance entre les souches testées sont les plus élevées; nous avons donc conservé cette température tout au long de nos expériences en tubes à essai. Une fois cette méthode adoptée, nous l'avons appliquée à la mesure de la vitesse de croissance de nos 25 souches de *P. ostreatus* et des formes affines, sur maltéa gélosée à 2 %. Les résultats apparaissent sur le tableau 6. Nous avons utilisé comme témoin ce milieu sur lequel les valeurs des vitesses de croissance sont du même ordre de grandeur pour toutes les souches.

Tableau 4. — Vitesse de croissance (mm/j) des différentes espèces de *Pleurotus*, sur maltea gélosée à diverses températures.

	10°C	15°C	20°C	25°C
<i>P. ostreatus</i>	2,7 ± 0,13	4,1 ± 0,11	7,5 ± 0,18	7,5 ± 0,28
<i>P. ulmarius</i>	1,4 ± 0,06	1,9 ± 0,07	4,4 ± 0,19	7,4 ± 0,60
<i>P. cornucopioides</i>	3,1 ± 0,11	2,4 ± 0,06	4,0 ± 0,16	4,3 ± 0,43
<i>P. eryngii</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	2,5 ± 0,07	0,9 ± 0,11	2,6 ± 0,15	3,6 ± 0,34

2. Influence des sources d'azote et de carbone sur le développement mycélien et la fructification

Depuis les travaux de LEONIAN et LILLY (1938, 1940) et STEINBERG (1939) sur la nutrition des champignons, beaucoup d'autres recherches ont eu pour but de déterminer les différentes substances azotées et carbonées assimilées par les Basidiomycètes (TRESCHOW 1944, HACSKAYLO et al. 1954, KOCK 1958, TSAO 1963, VOLTZ 1972). Le *P. ostreatus* a été souvent choisi comme sujet de ces expériences en raison de la relative facilité avec laquelle il pousse et fructifie en tubes à essai. Dans tous ces travaux, sa croissance a été comparée à celle d'autres Basidiomycètes, mais aucune autre étude n'a pris en considération l'espèce seule, avec ses variations ou ses formes affines. C'est pourquoi nous avons pensé qu'il serait intéressant de comparer le comportement de nos souches, susceptible d'apporter des éléments supplémentaires pour juger de leur position systématique. L'observation de l'aspect macroscopique des cultures et les données fournies par les vitesses de croissance, qui traduisent certaines caractéristiques du champignon étudié, apportent des précisions sur leurs affinités réciproques et, en outre, donnent des renseignements utiles sur leurs exigences nutritionnelles.

a) Milieu témoin

L'aspect des cultures axéniques, sur milieu gélosé, fournit souvent des indications fort utiles pour la distinction des différents types.

Sur maltea à 2 % gélosée à 2 %, les types A (souches n° 4, 5, 26 à 28), B (souches n° 313, 83, 306) et C (souches n° 40, 1271 à 1273) forment des thalles macroscopiquement semblables, développant un mycélium blanc abondant, cotonneux et très aérien, qui envahit rapidement tout l'espace compris entre la surface du milieu de culture et la paroi du tube.

Le type D (souches n° 29 à 34) produit un mycélium surtout rampant, parsemé de très petits flocons blancs, d'aspect granuleux, qui n'occupe jamais entièrement l'espace compris entre le milieu de culture et la paroi de tube.

Les cultures mycéliennes du type E (souches n° 49 à 53) offrent un aspect proche de celui du type précédent, avec un mycélium moins abondant, dépourvu de flocons, mais aggrégé en cordonnets blanchâtres.

Voisines de celles des types A, B et C, les cultures du type F (souche n° 37) s'en distinguent cependant par une croissance moins exubérante.

Chez l'ensemble des souches, les fructifications apparaissent normalement au bout de 40 à 50 jours. Les carpophores obtenus n'ont pas un stipe latéral comme dans la nature, mais presque toujours central; ils portent un chapeau coloré (marron, gris, chamois ou crème selon le type) et de petites lamelles décurrentes à hyménium fertile. La taille des fructifications adultes, qui peuvent se trouver isolées ou en touffes, varie entre 2 et 10 mm de hauteur, avec un diamètre de 2 à 5 mm.

De tous les primordiums apparus à la surface du milieu de culture, un petit nombre seulement arrive à maturité, beaucoup avortent ou cessent de croître.

Sur le milieu témoin, quelques variantes dans les modalités de la fructification se manifestent selon les diverses souches, confirmant l'individualité des types définis précédemment.

Tableau 5. — Caractéristiques des souches en culture pure sur milieu témoin.

Types	Aspect du mycélium	Croissance	Fructification
A, B et C (souches n° 4, 5, 26 à 28)	Blanc, abondant, cotonneux très aérien	Rapide, envahit l'espace compris entre le milieu et la paroi du tube	Rapide (40 jours). Carpophores normaux
D (souches n° 29 à 34)	Rampant, parsemé de petits flocons, granuleux	Lente, n'occupe jamais l'espace entre le milieu et la paroi du tube	Plus tardive (50-55 jours). Carpophores normaux, mais au pied long
E (souches n° 49 à 53)	Dépourvu de flocons, aggrégé en cordonnets blanchâtres	Lente, n'occupe jamais l'espace entre le milieu et la paroi du tube	Nulle
F (souche n° 37)	Cotonneux aérien	Rapide, mais moins exhébérante que dans les types A, B ou C	Nulle

Les types A et B (sauf la souche n° 28 demeurée stérile) forment dans un délai rapide (40 jours après l'ensemencement) des carpophores très nombreux et caractéristiques du type (chapeau toujours foncé).

Dans le type C, les souches n° 1271 à 1273 fructifient normalement tandis que la souche n° 40 ne donne aucun carpophore dans les délais habituels.

L'ensemble des souches réunies dans le type D fructifie un peu plus tardivement (50-55 jours); les carpophores ont un pied assez long et le chapeau est blanc chamoisé.

Les souches du type E, de même que celle du type F, ne fructifient pas. Seule la souche n° 49 développe des ébauches de primordiums abortifs.

b) Sources d'azote

Afin de déterminer la possibilité d'utilisation de l'azote sous différentes formes, nous avons préparé un milieu général de base auquel nous avons ajouté diverses sources d'azote, le carbone étant introduit sous forme de glucose.

Les vitesses de croissance du mycélium sont groupées dans le tableau 7. Sur ce tableau n'apparaissent pas les mesures des cultures réalisées sur les milieux additionnés de lysine et de nitrate de sodium, où la croissance est presque nulle (arrêt de croissance dû à une variation très forte du pH, alcalin dans le cas du nitrate, ou non utilisation de l'azote sous ces formes par l'ensemble de souches).

Les souches du type A utilisent les diverses sources d'azote, mais leurs vitesses de croissance ne dépassent, sur aucun milieu, celles observées sur le témoin. Le meilleur résultat est obtenu avec le sulfate d'ammonium pour les souches n° 4 et 5. L'aspect des cultures est semblable à celui obtenu sur le milieu témoin, mais dans quelques cas (marqués par une astérisque sur le tableau 7) le mycélium n'envahit pas toute la surface du substrat disponible.

Le type B réagit favorablement aux divers milieux. Les souches poussent bien sur tous les substrats et arrivent même quelquefois à dépasser la vitesse de croissance du témoin.

Incorporés au type B, en raison de la morphologie et de la couleur de leurs carpophores, ainsi que de l'aspect mycélien de leurs cultures sur maltea gélosée, les deux souches d'origine commerciale (n° 306 et 120) se comportent de façon différente dans les essais relatifs aux sources d'azote, avec des vitesses de croissance inférieures à celles du type B et un refus marqué de l'acide aspartique de la part de la souche n° 306.

L'ensemble des souches réunies dans le type C donne les résultats les plus homogènes avec les milieux azotés qui leur sont proposés. Les vitesses de croissance sont élevées, semblables ou supérieures à celles du témoin et l'aspect mycélien des cultures est très satisfaisant, sauf sur le sulfate d'ammonium où la vigueur est un peu diminuée.

Les souches des types D et E utilisent beaucoup moins bien, et plus irrégulièrement, les sources d'azote incorporées au milieu. En général, l'acide aspartique et le sulfate d'ammonium ne sont pas bien admis. Dans tous les cas, le mycélium est peu abondant et n'arrive pas à envahir totalement la surface du milieu. Le type D réagit un peu mieux à la sérine et à la peptone; le type E se distingue par la pauvreté de sa croissance mycélienne.

La souche du type F a une préférence nette pour l'acide aspartique et, à un moindre degré, pour la peptone.

Dans l'ensemble, les sources d'azote utilisées (la lysine et le nitrate de sodium exceptés, puisqu'ils ne permettent pas la croissance mycélienne), ont une influence bénéfique sur la fructification (tableau 8). Même dans les cas où la vitesse de croissance est très lente, l'aspect mycélien de la culture très pauvre, des primordiums apparaissent et évoluent même parfois. Les seuls milieux franchement défavorables sont donc le nitrate de sodium, où aucune ébauche de fructification ne se forme, et la lysine où nous avons obtenu, exceptionnellement, deux petits carpophores.

Dans le type A, les souches n° 4 et 5 fructifient tôt sur tous les milieux, puisque les premiers primordiums apparaissent 28 à 30 jours après l'ensemencement. Les souches n° 26, 27 et 28, qui ne fructifient pas sur le milieu témoin, produisent des carpophores sur la plupart des autres milieux. L'aspect des fructifications varie selon le substrat, très bien développées sur l'asparagine et la peptone, encore normales, mais moins exhubérantes, sur le sulfate d'ammonium, quelquefois coralloïdes sur la sérine.

Le type B est le plus prolifique de tous. Ses souches fructifient très bien sur tous les milieux, avec de grands carpophores normaux, sauf sur l'acide aspartique pour la souche n° 313 (où ils sont moins développés) et sur la sérine pour la souche n° 83 (qui donne des exemplaires légèrement déformés).

Les souches du type C sont influencées défavorablement par l'acide aspartique. Sur les autres milieux, la fructification est irrégulière et, sur la sérine, les carpophores se développent mal.

A nouveau, les types D, E et F se singularisent par l'hétérogénéité de leur comportement. La qualité de fructification obtenue avec les souches du type D

les rapproche, cette fois, de l'ensemble A, B et C, sauf en ce qui concerne l'influence de la sérine et de l'acide aspartique. Un peu plus éloignées, les souches du type E préfèrent la sérine et l'asparagine; elles fructifient sur ces milieux tandis qu'elles ne le font pas sur le milieu témoin. Le type F se montre le plus exigeant, fructifiant seulement sur le milieu additionné de peptone.

c) Sources de carbone

Au milieu de base, nous avons toujours introduit l'azote sous forme d'acide aspartique.

Toutes les sources de carbone essayées sont plus ou moins utilisées par les différentes souches, aucune ne se révélant franchement négative. Les vitesses de croissance du mycélium sont groupées dans le tableau 9.

Parmi l'ensemble de souches qui forment le type A, les n° 4 et 5 donnent de très bons résultats avec les divers milieux. Les vitesses de croissance sur maltose et saccharose sont même un peu plus élevées que sur le témoin. Seul, l'amidon fournit une croissance plus faible. La souche n° 27, de même que dans les essais précédents, se montre peu sensible aux milieux proposés. Les autres souches acceptent les différentes formes de carbone, mais à un moindre degré; sur l'amidon leur vitesse de croissance est plus faible.

Les souches n° 313 et 83, appartenant au type B et qui donnent des réponses semblables sur les milieux azotés, manifestent quelques différences sur les milieux carbonés. Les meilleurs résultats sont obtenus sur xylose, avec les valeurs les plus élevées de toute l'expérience. Sur les autres milieux, les deux souches réagissent très bien, même sur l'amidon où la souche n° 83 pousse très vite.

Les souches du type C se comportent de façon homogène sur fructose, glucose et xylose. Sur l'amidon, la souche n° 40 se distingue par une très bonne croissance tandis que les autres sont beaucoup plus lentes. En ce qui concerne le maltose et le saccharose, les résultats sont inversés : les souches n° 1271 à 1273 donnent une réponse nettement supérieure à celle de la souche n° 40.

Les résultats obtenus avec les autres types sont toujours inférieurs aux précédents. Les vitesses de croissance restent faibles et il n'y a pas toujours envahissement total de la surface du milieu, en particulier sur amidon et glucose. Le type E se singularise encore par sa très mauvaise utilisation des sucres. Si le type D les utilise mieux, ses possibilités sont cependant limitées. A propos du type F, on retiendra sa préférence pour le glucose et le xylose.

Il est intéressant de signaler le comportement de la souche n° 32, seule de celles du type D à donner une réponse très faible sur tous les milieux (sauf sur le témoin, où la croissance est normale). Ce phénomène, qui se reproduit dans les mêmes conditions avec la souche n° 27, type A, montre bien l'hétérogénéité de réponse et la diversité du matériel, en même temps qu'il souligne la nécessité de faire appel à un nombre élevé de souches pour obtenir des résultats significatifs.

Sur les milieux à sources de carbone distinctes, la fructification est beaucoup moins abondante que sur les milieux à sources d'azote différentes (tableau 10). Seul le type A est très prolifique sauf, toutefois, sur amidon où seules les souches n° 4 et 5 produisent des carpophores.

Le glucose et, à un moindre degré, le fructose et le saccharose sont favorables à la fructifications du type B.

Chez le type C, nous obtenons deux sortes de réponses, différentes selon les souches : la souche n° 40, qui ne fructifie pas sur le milieu témoin, le fait très abondamment sur les milieux sucrés (à l'exception du xylose), tandis que les souches n° 1271 à 1273, fertiles sur maltea gélosée, ne donnent aucune fructification sur les milieux expérimentés.

A propos des autres types, on remarque que le type D fructifie moins bien sur les milieux additionnés de sucre que sur le témoin. Le type E, qui reste stérile sur maltea gélosée, produit sur le fructose quelques carpophores. Le type F, stérile aussi sur le témoin, montre une préférence pour le maltose, le saccharose et, moins nettement, le fructose et le xylose.

d) Discussion et conclusions

Le métabolisme de l'azote, à l'exception de certains aspects concernant la synthèse des acides aminés, a été relativement peu étudié chez les Basidiomycètes, et les connaissances actuelles sur le mécanisme de l'assimilation de l'azote sont très fragmentaires. D'après les différents travaux réalisés sur l'influence de l'azote et du carbone sur la croissance de quelques *Pleurotus*, les résultats sont divers. LILLY et BARNETT (1951) affirment que les sels d'ammonium permettent une meilleure croissance que les acides aminés chez le *Pleurotus ostreatus*. HACSKAYLO et al. (1954), en étudiant le comportement de 25 espèces de Basidiomycètes (*P. ostreatus* inclus) vis-à-vis de trois sources d'azote (nitrate, ammoniacque et asparagine) signalent que toutes les espèces étudiées utilisent l'azote organique et ammoniacal et, très lentement, les nitrates.

De nombreux auteurs ont signalé que la croissance de *Pleurotus* spp. sur sels ammoniacaux et nitrates est modérée, comparativement à celle, très bonne, sur peptone, urée et acides aminés (TSAO 1963, LEONIAN et al. 1938, 1940, STEINBERG 1939, KOCK 1958, BLOCK et al. 1959, VOLTZ 1972).

L'influence des différentes sources de carbone sur la croissance végétative des champignons a été mieux étudiée et les voies d'utilisation à peu près élucidées. En ce qui concerne les *Pleurotus*, KOCK (1958) et TSAO (1963) ont noté que le glucose, le fructose, le mannose et le xylose sont de bonnes sources de carbone. Selon les mêmes auteurs, ainsi que YUSEF et ALLAM (1967) et VOLTZ (1972), l'amidon favorise également la croissance mycélienne.

Parmi les études sur la fructification, KOCK (1958) et BLOCK et al. (1959) remarquent qu'ils ont obtenu des carpophores du *P. ostreatus* en utilisant la peptone, l'hydrolysate de caséine, le nitrate de sodium et le sulfate d'ammonium comme sources d'azote; la mélasse, le glucose ou la cellulose comme sources carbonées. KLIOSHNIKOV et al. (1935) constatent que l'amidon est un milieu défavorable à la fructification. Nos résultats sont en accord avec la plupart des travaux précédemment cités en ce qui concerne les diverses sources d'azote et de carbone. Les divergences constatées peuvent découler de l'emploi de formes différentes de *P. ostreatus*, variations que nous constatons aussi parmi l'ensemble de nos souches.*

* La formation du complexe *Pleurotus sapidus-ostreatus* par ANDERSON et al. (1973) nous étonne. Selon les auteurs consultés, le *Pleurotus sapidus* est, en effet, toujours mis en synonymie avec le *P. cornucopioides* Paul. ex Fries, qui est incontestablement différent du *P. ostreatus*.

Il ressort de l'analyse de l'influence des sources d'azote et de carbone que les distinctions établies entre les types de souches, à partir des exigences thermiques de leur fructification et de la morphologie de leurs carpophores, sont appuyées par les exigences nutritionnelles qui sont, aussi, différentes.

Les types A, B et C, qui forment le groupe du *Pleurotus ostreatus* typique, se caractérisent par une certaine homogénéité dans leurs vitesses de croissance et dans leur aspect mycélien, sur les milieux azotés. Si des différences apparaissent, elles ne débordent pas le cadre des fluctuations qu'on peut raisonnablement attendre à propos des exigences particulières de chaque souche.

Les souches des autres types utilisent moins bien, et plus irrégulièrement, les sources d'azote incorporées au milieu. Les types D et E se distinguent surtout par l'inaptitude à utiliser l'acide aspartique comme source d'azote.

L'asparagine est mieux utilisée que l'acide aspartique par l'ensemble des types. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'elle fonctionne comme source d'acide aspartique avec de l'azote en plus, ou encore parce que l'asparagine est, dans beaucoup de systèmes, plus active que l'aspartate comme fournisseur du groupe aminé dans les réactions de transamination (COCHRANE 1958).

Il est intéressant de noter que, avec le sulfate d'ammonium, même si la vitesse de croissance est normale, l'aspect mycélien se montre souvent peu vigoureux et, quelquefois, un arrêt de la croissance se produit avant l'envahissement total de la surface du milieu (particulièrement dans les types D, E et F), l'acidification progressive du milieu, résultant de l'utilisation préférentielle des ions ammonium pouvant en être la cause.

Nous attendions une réponse beaucoup plus favorable à la peptone, cette source complexe contenant de nombreuses substances directement assimilables, d'où une économie d'énergie. Néanmoins, les résultats obtenus laissent supposer que, par rapport aux autres sources d'azote proposées, celle-ci n'était guère plus assimilable.

En général, d'après nos résultats sur les milieux azotés, nous pouvons rattacher nos souches de *Pleurotus* au groupe III de la classification de ROBBINS (1937), c'est à dire les placer parmi les organismes qui sont capables d'utiliser l'azote sous forme organique ou ammoniacale, mais pas l'azote libre ni les nitrates.

Le glucose est utilisé par tous les champignons cultivés. Les résultats très faibles obtenus sur ce milieu avec les types D et E pourraient avoir leur origine dans l'introduction de l'acide aspartique comme source d'azote qui, comme il a été noté précédemment, n'est pas adéquate pour ces souches.

La possibilité pour un organisme d'utiliser d'autres hexoses, comme le fructose, dépend de sa capacité à convertir ce sucre en un dérivé phosphorylé du glucose qui soit capable de s'intégrer dans la principale voie de la chaîne respiratoire. Les souches étudiées semblent posséder cette capacité puisque les résultats obtenus avec le glucose et le fructose sont semblables.

Le xylose est le pentose le plus utilisé. Sa voie d'utilisation n'est pas bien connue, mais il semble qu'il participe à l'oxydation du phosphogluconate sous la forme de pentose-phosphate. Nous avons toujours obtenu de bons résultats avec ce sucre, surtout chez les types D, E et F qui semblent le préférer aux autres

PLANCHE I

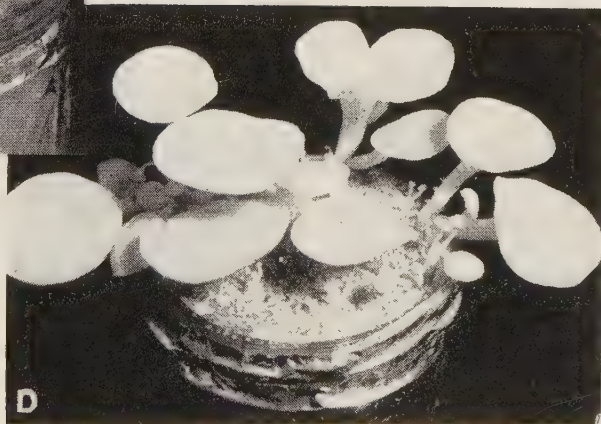
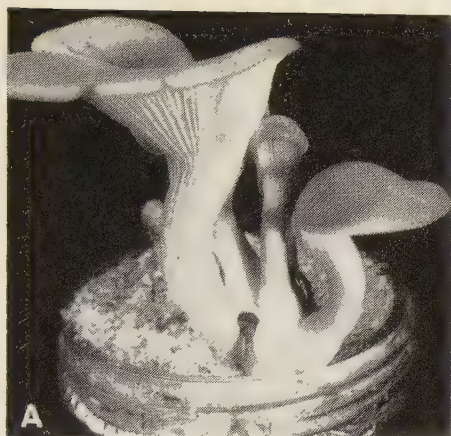


PLANCHE II

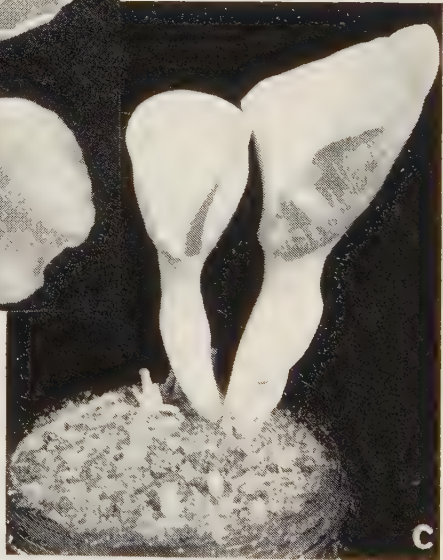


PLANCHE III

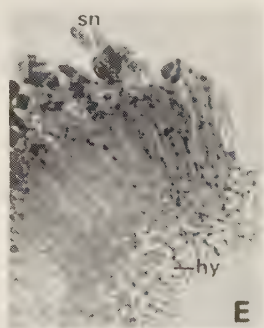
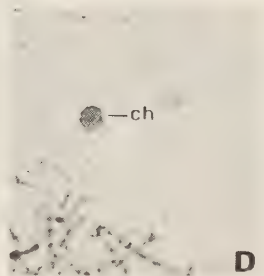
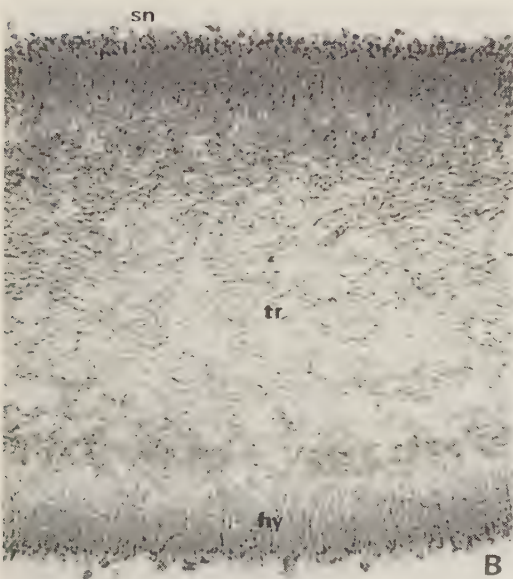
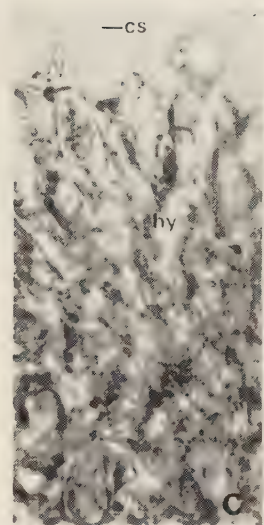


PLANCHE IV

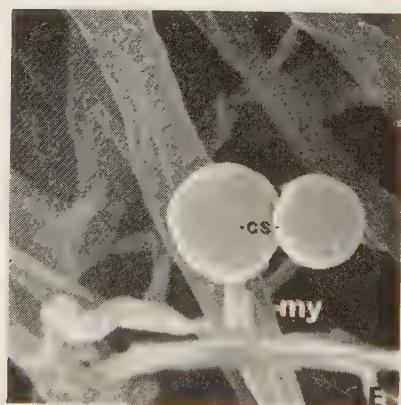
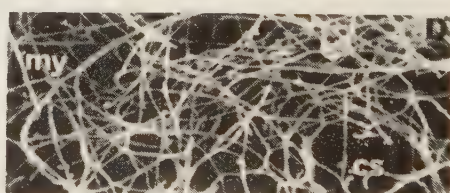
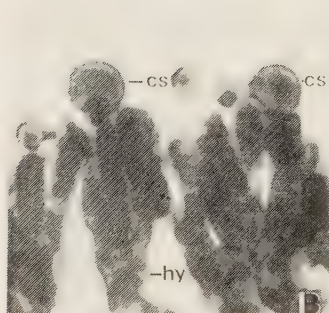
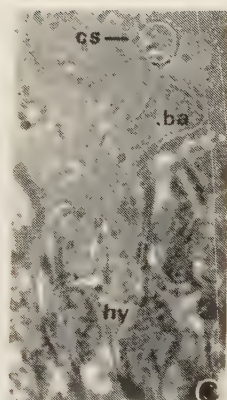
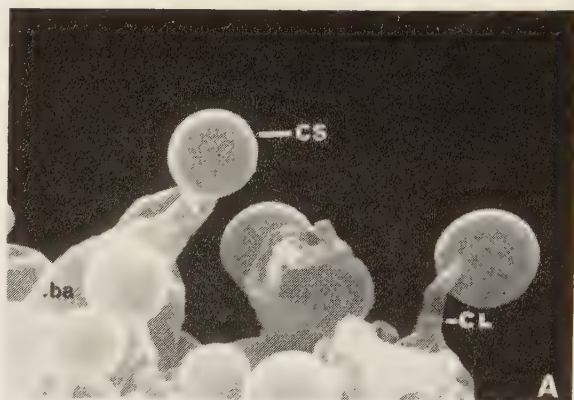


PLANCHE V

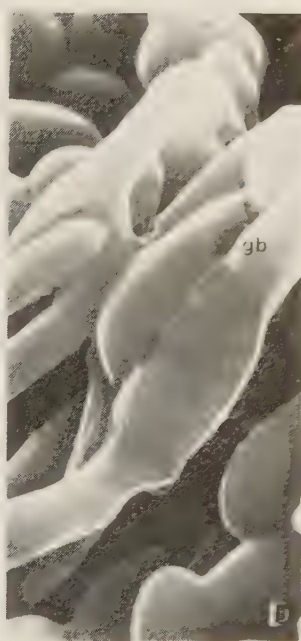


PLANCHE VI

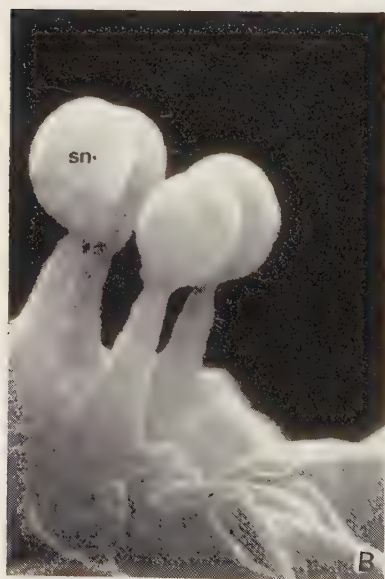


PLANCHE VII

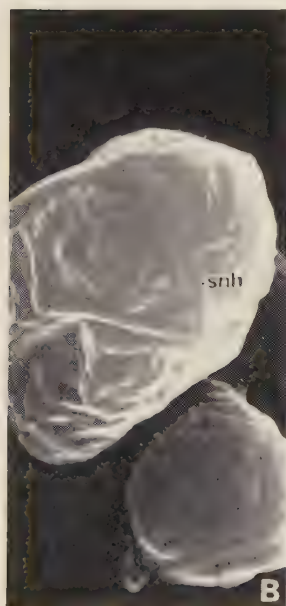
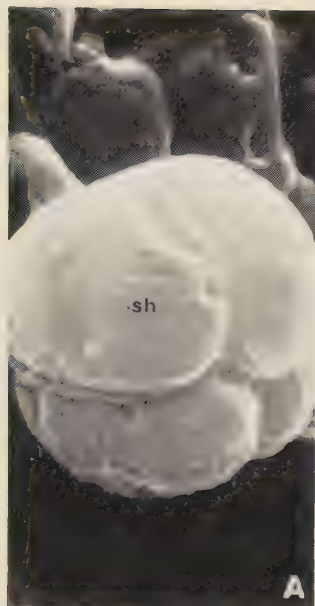


PLANCHE VIII



a



b



c



d



e



f



g



h



i



j



k



l



m



n



o



q



p

sources de carbone. Ce fait ne semble pas surprenant lorsqu'on sait qu'il s'agit de champignons lignivores.

L'utilisation de disaccharides comme le maltose et le saccharose dénote la présence d'enzymes capables d'hydrolyser ces composés en hexoses. Les résultats obtenus montrent la réalisation de cette hydrolyse chez toutes nos souches, à l'exception peut-être de celles appartenant au type E.

L'amidon n'est pas une excellente source de carbone pour nos souches de *Pleurotus*, en particulier pour les types D et E et quelques souches du type A.

En général, il ressort de nos résultats que les types A, B et C conservent leur individualité propre, mais forment un ensemble spécifique.

Les types D, E et F se distinguent davantage les uns des autres. Le type E est remarquable par la rigueur de ses besoins, d'autant plus que, sur les milieux naturels semi-stériles sa fructification, au moins égale et parfois supérieure à celle des autres, ne pose pas de problèmes particuliers.

Les types D et F se montrent assez proches l'un de l'autre en ce qui concerne leurs besoins pour la croissance mycélienne, mais différent dans leurs exigences pour la fructification.

On notera encore que, dans l'ensemble, si les sources carbonées sont les mieux utilisées pour la croissance mycélienne, par contre les sources azotées, lysine et nitrate de sodium exceptés, se révèlent plus favorables à la fructification.

Tableau 6. — Vitesse de croissance (mm/j) des 25 souches de *P. ostreatus* et formes affines sur milieu témoin.

N° de souche	Vitesse de croissance	N° de souche	Vitesse de croissance
4	4,9 ± 0,13	29	4,6 ± 0,31
5	4,6 ± 0,02	30	4,4 ± 0,13
26	4,9 ± 0,09	31	4,5 ± 0,21
27	4,3 ± 0,13	32	4,4 ± 0,24
28	5,1 ± 0,17	33	4,1 ± 0,09
313	4,2 ± 0,18	34	4,1 ± 0,12
83	4,1 ± 0,19	49	4,4 ± 0,25
306	4,7 ± 0,06	50	4,4 ± 0,21
120	4,4 ± 0,12	51	4,0 ± 0,18
40	5,0 ± 0,26	52	4,0 ± 0,19
1271	4,6 ± 0,46	53	4,3 ± 0,43
1272	4,9 ± 0,10	37	4,9 ± 0,16
1273	4,9 ± 0,12		

Tableau 7. - Vitesse de croissance (mm/j) des souches de *P. ostreatus* et formes affines sur les milieux azotés.

Types	N ^o souche	Ac.	Sérine	Asparagine	Peptone	Sulf.	Lysine et Na NO ₃
		Aspart.				Ammon.	
A	4	3,6 ± 0,08	3,8 ± 0,08	3,6 ± 0,08	3,1 ± 0,06	4,8 ± 0,04	—
	5	3,9 ± 0,12	3,7 ± 0,13	3,4 ± 0,10	4,4 ± 0,28	4,8 ± 0,15	—
	26	3,0 ± 0,02	3,2 ± 0,03	3,3 ± 0,06	3,4 ± 0,06	2,8 ± 0,02	—
	27	3,3 ± 0,16	*0,3 ± 0,01	*0,7 ± 0,04	*1,2 ± 0,08	*2,3 ± 0,06	—
	28	3,4 ± 0,08	*1,5 ± 0,05	4,8 ± 0,29	2,9 ± 0,03	*2,6 ± 0,04	—
B	313	5,4 ± 0,38	4,9 ± 0,23	4,8 ± 0,14	4,7 ± 0,09	4,2 ± 0,10	—
	83	4,5 ± 0,10	3,3 ± 0,07	4,5 ± 0,34	5,1 ± 0,11	4,0 ± 0,07	—
	306	*1,9 ± 0,07	3,0 ± 0,06	3,3 ± 0,25	4,2 ± 0,04	3,6 ± 0,05	—
	120	3,6 ± 0,04	3,1 ± 0,07	3,1 ± 0,07	3,7 ± 0,09	3,3 ± 0,16	—
C	40	4,8 ± 0,30	3,5 ± 0,09	3,6 ± 0,09	3,4 ± 0,12	4,2 ± 0,02	—
	1271	4,0 ± 0,03	4,4 ± 0,08	4,8 ± 0,07	5,0 ± 0,35	4,6 ± 0,20	—
	1272	4,2 ± 0,10	3,4 ± 0,08	5,1 ± 0,29	4,1 ± 0,06	4,6 ± 0,07	—
	1273	4,3 ± 0,06	3,2 ± 0,02	3,5 ± 0,14	4,4 ± 0,13	3,9 ± 0,18	—
D	29	*4,3 ± 0,09	3,2 ± 0,07	2,3 ± 0,10	3,4 ± 0,07	*3,6 ± 0,19	—
	30	*2,7 ± 0,07	2,2 ± 0,03	2,8 ± 0,03	3,2 ± 0,09	*1,6 ± 0,15	—
	31	*4,0 ± 0,09	2,8 ± 0,05	2,8 ± 0,05	3,3 ± 0,10	*2,6 ± 0,13	—
	32	*0,6 ± 0,03	2,6 ± 0,02	2,9 ± 0,03	3,5 ± 0,08	1,5 ± 0,07	—
	33	*1,5 ± 0,05	3,4 ± 0,02	3,2 ± 0,09	3,1 ± 0,05	*3,0 ± 0,09	—
	34	*1,7 ± 0,19	3,2 ± 0,09	*2,6 ± 0,04	*1,1 ± 0,02	2,8 ± 0,05	—
E	49	*0,9 ± 0,03	2,7 ± 0,06	2,9 ± 0,05	2,7 ± 0,04	*2,4 ± 0,03	—
	50	*1,0 ± 0,06	2,5 ± 0,06	2,8 ± 0,04	2,4 ± 0,52	*3,9 ± 0,20	—
	51	*0,9 ± 0,04	2,5 ± 0,07	3,5 ± 0,13	2,8 ± 0,04	*4,8 ± 0,27	—
	52	*3,0 ± 0,23	2,5 ± 0,07	2,9 ± 0,05	2,4 ± 0,05	*2,4 ± 0,08	—
	53	*1,9 ± 0,05	2,7 ± 0,08	2,8 ± 0,07	2,5 ± 0,08	*2,5 ± 0,08	—
F	37	4,6 ± 0,14	*2,7 ± 0,13	2,4 ± 0,04	3,2 ± 0,05	*2,4 ± 0,06	—

* Envahissement incomplet du biseau gélosé.

Tableau 8. — Fructification des 25 souches de *P. ostreatus* et formes affines, sur milieux azotés.

Type	N° souche	Ac. aspart.	Sérine	Asparagine	Peptone	Sulf. Ammon.
A	4	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+
	26		+	+	+	+
	27	+	+	+		+
	28	+	+			+
B	313	+	+	+	+	+
	83	+	+	+	+	+
	306	+	+	+	+	+
	120		+	+	+	+
C	40	+	+	+	+	+
	1271		+			+
	1272		+	+	+	+
	1273				+	
D	29	+	+	+	+	
	30	+		+	+	+
	31			+	+	+
	32		+	+	+	+
	33		+	+	+	+
	34					
E	49		+			
	50		+	+	+	
	51			+		
	52		+			
	53		+	+		
F	37				+	

Tableau 9. — Vitesse de croissance (mm/j) des souches de *P. ostreatus* et formes affines sur les milieux carbonés.

Type	N° souche	Maltose	Saccharose	Amidon	Fructose	Glucose	Xylose
A	4	5,5 ± 0,20	5,8 ± 0,17	3,2 ± 0,15	4,5 ± 0,09	4,2 ± 0,13	4,9 ± 0,18
	5	5,3 ± 0,17	5,1 ± 0,17	3,2 ± 0,17	4,7 ± 0,24	4,1 ± 0,13	4,7 ± 0,16
	26	3,4 ± 0,19	2,8 ± 0,12	*1,6 ± 0,06	3,6 ± 0,06	2,9 ± 0,06	2,7 ± 0,05
	27	*1,0 ± 0,05	3,2 ± 0,14	*0,6 ± 0,04	*0,9 ± 0,12	3,0 ± 0,07	4,3 ± 0,29
	28	3,5 ± 0,06	3,0 ± 0,22	*0,9 ± 0,12	3,4 ± 0,05	3,3 ± 0,17	4,2 ± 0,22
B	313	4,6 ± 0,18	4,7 ± 0,19	4,3 ± 0,25	4,4 ± 0,14	6,6 ± 0,49	8,2 ± 0,28
	83	4,7 ± 0,21	4,3 ± 0,14	7,2 ± 0,18	5,0 ± 0,20	4,8 ± 0,20	7,4 ± 0,47
C	40	3,6 ± 0,19	3,5 ± 0,30	6,2 ± 0,32	4,9 ± 0,08	5,4 ± 0,48	4,5 ± 0,11
	1271	7,8 ± 0,42	6,8 ± 0,49	3,1 ± 0,01	5,0 ± 0,09	4,0 ± 0,02	5,4 ± 0,09
	1272	6,7 ± 0,15	6,9 ± 0,15	4,7 ± 0,08	5,8 ± 0,25	4,5 ± 0,11	4,7 ± 0,11
	1273	5,1 ± 0,08	6,2 ± 0,07	2,2 ± 0,08	4,5 ± 0,20	4,8 ± 0,39	5,1 ± 0,07
D	29	*3,2 ± 0,14	3,8 ± 0,28	*2,8 ± 0,10	*0,9 ± 0,01	*4,4 ± 0,12	3,2 ± 0,08
	30	4,0 ± 0,13	3,2 ± 0,07	*2,9 ± 0,10	3,4 ± 0,10	*2,5 ± 0,04	3,5 ± 0,04
	31	3,6 ± 0,05	3,5 ± 0,10	*2,7 ± 0,17	3,8 ± 0,09	*4,3 ± 0,05	3,6 ± 0,02
	32	*0,6 ± 0,02	0,7 ± 0,06	*0,9 ± 0,21	*0,3 ± 0,01	*0,7 ± 0,03	1,5 ± 0,11
	33	2,7 ± 0,16	3,3 ± 0,12	*2,2 ± 0,04	4,0 ± 0,10	*1,4 ± 0,03	3,6 ± 0,01
	34	*3,0 ± 0,23	2,9 ± 0,13	*0,4 ± 0,02	*1,5 ± 0,02	*1,3 ± 0,03	2,7 ± 0,08
E	49	*0,6 ± 0,01	1,2 ± 0,08	*1,1 ± 0,02	3,3 ± 0,02	*0,9 ± 0,05	3,3 ± 0,08
	50	4,2 ± 0,23	1,7 ± 0,10	*1,6 ± 0,17	2,6 ± 0,10	*1,2 ± 0,11	4,2 ± 0,01
	51	*0,2 ± 0,02	0,1 ± 0,22	*0,5 ± 0,09	*1,5 ± 0,22	*0,9 ± 0,55	3,0 ± 0,09
	52	*0,8 ± 0,03	1,4 ± 0,05	*0,3 ± 0,02	*2,1 ± 0,04	*2,7 ± 0,10	4,2 ± 0,02
	531	*1,1 ± 0,05	1,9 ± 0,04	*1,8 ± 0,06	*1,9 ± 0,04	*2,0 ± 0,09	*1,2 ± 0,06
F	37	3,5 ± 0,19	2,1 ± 0,06	*2,7 ± 0,11	3,5 ± 0,04	4,9 ± 0,02	4,3 ± 0,10

* Envahissement incomplet du biseau gelosé.

Tableau 10. — Fructification des souches de *P. ostreatus* et formes affines, sur les milieux carbonés.

Type	N° souche	Maltose	Saccharose	Amidon	Fructose	Glucose	Xylose
A	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
	26	+	+		+		+
	27		+			+	+
	28	+			+		+
B	313		+			+	
	83				+	+	
C	40	+	+	+	+	+	
	1271						
	1272						
	1273						
D	29					+	
	30		+				+
	31		+		+		
	32						
	33						
	34						
E	49				+	+	
	50				+		
	51						
	52						
	53						
F	37	+	+		+		+

III. FRUCTIFICATION EN CONDITIONS SEMI-STÉRILES SUR MILIEUX ADDITIONNÉS DE SOURCES AZOTÉES ET CARBONÉES

En complément à l'étude précédente, nous avons voulu nous assurer de l'influence de certaines des sources d'azote et de carbone utilisées, dans des conditions plus naturelles, en les incorporant à un substrat pailleux, en conditions semi-stériles.

1. Conditions d'étude

Au milieu pailleux de base, choisi comme témoin, sont incorporées les substances qui ont donné les résultats les plus encourageants en culture en tubes à essai : peptone, asparagine et sulfate d'ammonium comme sources d'azote; xylose, maltose et glucose comme sources de carbone; à la concentration de 0,21g d'azote (exprimé comme N) pour 100g de milieu et 4g de carbone (exprimé comme C) pour 100g de milieu. Les solutions, filtrées sur millipores, sont ajoutées au milieu de base stérile au moyen d'une seringue pour faciliter leur diffusion.

Seules huit souches, choisies parmi les plus représentatives des types décrits précédemment, ont été utilisées : souches n° 4 (type A); n° 306 (type B); n° 40 (type C); n° 29 et 30 (type D); n° 49 et 52 (type E); et n° 37 (type F).

Après ensemencement, les bocaux sont placés en étuve à 25°C, à l'obscurité. En trois semaines, la totalité du substrat est généralement envahie, sauf pour les souches n° 4 et 306 dont le développement n'est pas uniforme, et pour la souche n° 30 qui laisse parfois de grandes plages non occupées. Les cultures sont alors placées en enceintes climatisées à 13-15°C, éclairées, et, huit jours après, les premiers primordiums apparaissent. Les bocaux, mis cette fois en position horizontale, sont superposés afin d'obtenir la fructification sur une surface verticale qui assure une forme plus naturelle aux carpophores.

2. Résultats et discussion

Les résultats (poids de carpophores récoltés mûrs) apparaissent groupés sur le tableau 11; ils ne concernent que les fructifications des deux premières récoltes («volées»), produites à 8-10 jours d'intervalle, les autres étant trop faibles.

Pour le type A, les sources d'azote et de carbone proposées sont bénéfiques et procurent, dans presque tous les cas, des récoltes supérieures à celle du témoin.

Le type B utilise efficacement tous les apports supplémentaires.

Le type C montre une légère augmentation de récolte, plus évidente avec le glucose et le maltose, tandis qu'avec le xylose la récolte est nettement inférieure, ce qui confirme l'inefficacité de ce sucre sur la fructification, déjà constatée sur milieu gélosé.

La productivité des deux souches choisies du type D est différente : la souche n° 30 est plus fertile que le n° 29 mais, dans les deux cas, nous observons dans tous les milieux une augmentation de la récolte par rapport au témoin.

Le type E qui, dans les essais in vitro se montrait toujours très sélectif quant à sa nutrition, confirme ici son incapacité d'adaptation. Sur tous les milieux, sauf ceux additionnés de glucose, la récolte est inférieure à celle du témoin.

Le type F confirme aussi les résultats déjà obtenus; un apport d'azote est favorable à sa fructification et, parmi les sources de carbone, il n'est capable de bien assimiler que le xylose.

3. Conclusions

Cet essai confirme les résultats obtenus sur les milieux gélosés à propos des besoins nutritifs. Une distinction entre les types A, B et C et les autres est évidente. Pour les deux premiers, A et B, correspondant au *P. ostreatus* typique, les apports supplémentaires permettent un meilleur rendement. Le type C, même s'il ressemble beaucoup aux précédents, montre quelques différences en ce qui concerne l'utilisation des sucres, spécialement du xylose; n'oublions pas que ce type appartient à la variété *colombinus* du *P. ostreatus*.

L'individualité des types D, E et F s'accroît davantage. Pour le type D nous constatons que l'addition des sucres entraîne une bonne fructification alors que, en tubes à essai ils n'étaient guère favorables. Ceci pourrait indiquer que pour ce type, des sucres utilisés seuls ne favorisent pas la formation de carpophores, mais, en apports supplémentaires, ils peuvent être favorables.

Le type E continue à se comporter de façon différente, ce qui confirme nos suppositions tendant à le séparer du *P. ostreatus*.

Le type F renforce également son individualité et montre à nouveau l'avantage d'un apport d'azote pour sa fructification.

Tableau 11. — Poids (en grammes) des carpophores de *P. ostreatus* et formes affines récoltées dans l'expérience en conditions semi-stériles.

A : asparagine. — P : peptone. — S : sulfate d'ammonium. — G : glucose. — X : xylose. — M : maltose.

Milieux	Types	A	C	B	D		E		F
	Souches	4	40	306	29	30	49	52	37
Témoin	1ère volée	67	23	73	38	103	119	87	53
	2ème volée	8	43	—	—	14	—	—	—
	total	75	66	73	38	117	119	87	53
A	1ère volée	75	23	94	61	62	55	42	38
	2ème volée	14	38	10	—	21	—	23	16
	total	89	61	104	61	83	55	65	54
P	1ère volée	71	70	98	80	65	32	40	37
	2ème volée	17	4	11	—	19	—	27	15
	total	88	74	109	80	84	32	67	52
S	1ère volée	28	73	87	46	87	82	66	21
	2ème volée	36	5	13	10	21	—	—	42
	total	64	78	100	56	108	82	66	63
G	1ère volée	87	24	125	39	104	96	48	23
	2ème volée	17	83	18	10	25	—	47	—
	total	104	107	143	49	129	96	95	23
X	1ère volée	58	8	80	45	83	20	62	53
	2ème volée	19	6	8	11	—	—	—	34
	total	77	14	88	56	83	20	62	87
M	1ère volée	40	32	86	53	109	45	40	39
	2ème volée	26	51	28	63	27	—	23	—
	total	66	83	114	116	136	45	63	39

IV. INCIDENCES SYSTÉMATIQUES

La conception du genre *Pleurotus*, tel que SINGER le définit (1949) est restreinte; néanmoins ce genre contient encore un certain nombre de groupes complexes qui ont été divisés en «macroespèces» ou plus exactement, en groupes héréditairement semblables. Parmi ces groupes nous trouvons le complexe *Pleurotus ostreatus*.

L'espèce type en est le *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fries) Qué. A travers le temps, plusieurs mycologues ont redécrit ce champignon, descriptions qu'il nous a paru intéressant de résumer ici, dans le tableau 12. On y trouve des variantes concernant la couleur du chapeau, les dimensions sporales, la présence ou l'absence de cystides. Ces divergences, dans la description de ce qu'on suppose être une seule espèce, supposent l'existence de plusieurs formes affines, dont les différences sont quelquefois si subtiles qu'elles obligent à rechercher d'autres critères que ceux ayant trait à la morphologie, tels ceux d'ordres physiologique et génétique.

Au début de notre travail, nous nous trouvions en face de vingt-cinq souches supposées appartenir à l'espèce *P. ostreatus*, mais présentant entre elles quelques variantes de couleur et d'époque de récolte qui nous ont incitée à rechercher d'autres critères pour essayer de préciser leurs positions systématiques.

L'étude embryologique ne nous a apporté aucun indice entre les souches, toutes étant gymnocarpiques.

Les premières différences nettes apparaissent lors de la culture en conditions semi-stériles à deux températures. A ce moment, nous distinguons deux grands groupes selon l'intensité de la coloration du chapeau, l'aspect du carpophore mûr et un comportement différent à l'égard de la température. Le premier groupe réunit trois types A, B et C, qui produisent un chapeau fortement coloré, à pied généralement court; ils sont les plus étroitement conformes aux descriptions courantes de l'espèce *P. ostreatus*, les variantes retenues se traduisant par des nuances de teintes, surtout manifestes sur le jeune carpophore, et par la forme du champignon adulte : le type A possède des primordiums bleutés qui deviennent marron grisâtre en mûrissant, la marge du carpophore mûr restant toujours entière; le type C diffère uniquement par sa coloration plus nettement violacée, d'ailleurs vite disparue après la récolte; le type B a des primordiums plus marron que noir, mais toujours sans nuance bleutée ni violacée; sa marge est régulièrement lobée à l'état adulte. Tous ces types préfèrent une température basse pour fructifier.

Dans le second groupe, le chapeau est généralement clair, avec des teintes variant du blanc crème au chamois très pâle, sans nuances violacées, et le pied est bien marqué. Ici, c'est l'aspect des carpophores mûrs, plutôt que des nuances de couleurs, qui sépare trois types différents, D, E et F. Le type D a un chapeau mince, étalé, peu creusé à l'insertion du pied; c'est le seul qui possède une cuticule gélatineuse; sa marge, toujours régulière, ne se relevant pas ou très peu. Le type E produit des carpophores semblables, mais sa cuticule n'est pas gélatineuse, sa marge ondule et se relève, exposant largement les lames à la vue. Dans ces deux types, le pied est net, plus robuste que dans le type E, excentrique mais

rarement latéral et tous les deux fructifient mieux à des températures relativement élevées. Le type se différencie par sa forme souvent spatulée, sa marge récurvée en liseré, son pied épais, mou, long et franchement latéral, et par sa très faible tolérance devant l'élévation du taux de CO_2 de l'atmosphère.

La présence d'anastomoses de lames, notamment en filet sur le pied, est un caractère diversement apprécié dans les descriptions du *P. ostreatus*. Sur nos cultures, ce phénomène apparaît de façon très irrégulière, absent ou présent, plus ou moins développé, sur des carpophores issus d'une même souche, mais jamais avec la constance observée chez le *P. cornucopioides* Paul. ex Fr. D'autre part, des modifications de l'éclairement, de l'aération, de l'hygrométrie, peuvent entraîner des variations morphologiques (allongement du pied, déformation du chapeau, changement de couleur) apparemment suffisantes pour motiver des distinctions, mais qui, l'expérience le prouve, ne seraient pas justifiées.

A l'aide d'autres critères, nous avons entrepris une série d'essais *in vitro* avec des milieux divers, ce qui nous a révélé quelques divergences du point de vue nutritionnel. Sur les milieux azotés, les types A, B et C montrent une certaine homogénéité dans leurs vitesses de croissance; par contre les types D, E et F donnent des réponses faibles sur ces mêmes milieux (spécialement avec l'acide aspartique pour les types D et E) et souvent croissent peu avec le sulfate d'ammonium.

Les réponses obtenues sur les milieux carbonés précisent davantage les différences entre les types. Parmi le premier groupe, le type A montre une faible vitesse de croissance sur l'amidon et des valeurs différentes de celles obtenues sur les autres milieux par les représentants des types B et C, qui réagissent ici très bien. Dans le deuxième groupe, les écarts entre les trois types se font très nets : le type E se singularise par sa croissance très lente; le type D, même si sa vitesse n'est pas optimale, réagit de façon plus favorable, et le type F utilise tous les substrats.

La dernière expérience, en conditions semi-stériles, corrobore les résultats obtenus dans les autres essais. Nous pouvons donc affirmer que l'ensemble de nos souches renferme plusieurs espèces différentes.

Les souches n° 4, 5, 26 à 28, 313, 83 et 306 (types A et B) appartiennent incontestablement, par leur morphologie, les exigences thermiques de leur fructification, leurs ressemblances nutritionnelles, au *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fries) Quél.

Les souches n° 40 et 1271 à 1273 (type C) ressemblent beaucoup aux précédentes, mais avec une légère différence de couleur et quelques préférences nutritionnelles qui nous autorisent à les intégrer à la variété *colombinus* Quél. du *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fries) Quél.

Les souches n° 49 à 53 (type E) forment un groupe à part, clairement individualisé par sa morphologie, son comportement cultural en conditions semi-stériles et ses réactions peu accentuées à la plupart des milieux proposés. D'après la description de H. ROMAGNESI (1969), nous dirons que ce groupe appartient au *Pleurotus salignus* Fr., même si l'époque de récolte de notre groupe diffère de celle de H. ROMAGNESI.

L'ensemble des souches du type D (n° 29 à 34) ne correspond certainement pas à une forme de *P. ostreatus* (Jacq. ex Fries) Quél., dont il se distingue par la

morphologie et les exigences thermiques et nutritionnelles. Dans l'immédiat, il nous paraît délicat de lui assigner une dénomination précise et nous préférons attendre des informations supplémentaires à son sujet.

Finalement, la souche 37 (type F) par sa couleur toujours claire, sa forme spatulée et son comportement spécial en culture, se sépare nettement du reste des souches. D'après les descriptions des différents auteurs, nous la rattachons au *Pleurotus pulmonarius* Fr., même si la présence d'hyphes à parois épaissies dans la trame, caractéristique de cette espèce selon H. ROMAGNESI (1969), ne nous a pas paru évidente.

Tableau 12. — Résumé de descriptions du *P. ostreatus* par différents auteurs.

Auteur, ouvrage, année	Couleur du chapeau	Mesure des spores μm
PAULET, Traité des champignons, 1793	Fauve brun	Non précisées
FRIES, Syst. Myc., 1821	Nigricante cinereo, expallente junior nigriscens, mox fuscus l. cinereus, dein ex pallidus, tandem flavescens	Non précisées
BERKELEY, Outl. of British Fungus, 1860	Cinereous	Non précisées
QUÉLET, Flore, 1888	Noir violacé, brun cendré, bistre ou gris bleuâtre pâlissant	12-14
ATKINSON, Mushrooms, Edible and Poisonous 1900	White, light gray, buff or dark gray, often becoming yellowish or dying	Non précisées
BULLER, Researches of Fungi, 1924	Blue to yellowish brown	Non précisées
BRESADOLA, I. Myc., 1928	Fuscus, fere niger mox expallens murino-alutaceus	Non précisées
LANGE, Flora Algaric. Danica, 1935-40	Cap varying colour from livid to fuscous with a flush of purplish or pigeon blue	10,11 $\times$ 3,5-3,75
KUEHNER et ROMAGNESI, Flore, 1953	Fortement coloré, brun gris noirâtre ou noir bleuâtre	8,11 $\times$ 3,4
HEIM, Champignons d'Europe, 1957	Sombre, variant du chamois au noir violacé	Non précisées
MAUBLANC et VIENNOT-BOURGIN, Champignons de France 1959	Teinte variable : brun noirâtre bistre, brun violacé, gris pâlissant et devenant ocracé ou jaunâtre à la fin	9-12 $\times$ 3,4
SINGER, Agaricales in Modern Taxonomy, 1962	gray, fuscous-umber, green-yellow, red or blue to lilac pigment	Non précisées
ROMAGNESI, Petit Atlas, 1970	Très variable : noirâtre violacé, brun violacé, brun ocracé, brun grisâtre, gris brunâtre	Non précisées

ÉLÉMENTS DE REPRODUCTION

À l'exception des recherches sur la compatibilité sexuelle (hétérothallisme tétrapolaire : VANDENDRIES 1933, TERAOKA 1956, EUGENIO et ANDERSON 1968), peu de travaux ont été effectués jusqu'à présent sur la biologie des éléments de reproduction du *P. ostreatus*.

Comme chez les autres Basidiomycètes, les éléments de reproduction connus sont les spores normalement constituées. Cependant, d'autres structures reproductrices, se trouvant aussi bien sur le mycélium que sur les basides et cystides, ont attiré, à des degrés différents, l'attention des chercheurs :

Spores sexuées normales.

En ce qui concerne les spores, les modalités de germination ont été décrites très sommairement par LEARN (1912) et par H. TERAOKA (1956).

La sporée du *P. ostreatus* et des formes affines étudiées ici révèle un hétéromorphisme sporal manifeste. Les longueurs des spores, chez nos vingt-cinq souches se situent entre 5,5-7,5-12 μm . Toujours plus courtes, dans le type E, les spores restent plus allongées chez le type A.

Fortement métachromatiques sous l'action des colorants basiques ammoniacaux, ces spores réagissent positivement à l'action du Soudan III, à celle du bleu de BZL et possèdent un ou deux noyaux selon l'état sporal. Elles se montrent entourées d'une gaine mucilagineuse d'épaisseur moyenne, teintée en rose par les colorants basiques. Cette mucosité constitue leur meilleur moyen d'ancrage aux différents substrats sur lesquels elles se déposent*. Couvertes de leur mucilage, détachées ou non de leurs stérigmates, les spores forment des amas souvent assez épais sur les lames, les lamelles, les pieds des carpophores et sur les objets où elles se déposent. Leur morphologie apparaît profondément altérée selon le degré de leur déshydratation, celle-ci ayant lieu très vite et laissant la spore très collapsée par endroits. Ainsi, une étude sporale correcte au microscope photonique demande, dans ce cas, un regonflement préalable par les acides et les bases couramment employés pour les observations mycologiques; une pression mécanique ultérieure peut séparer - en entier ou en partie - la gaine mucilagineuse de la paroi sporale.

Avant la germination la spore gonfle, de façon naturelle cette fois-ci, et, le tube mycélien émis, la couverture du mucilage se frippe parfois autour de la paroi sporale. Dans nos conditions de travail, sur malte gélosée à 2 %, la germination sporale s'effectue dans un délai de 48 heures, en des temps beaucoup plus brefs que ceux observés par LEARN (1912) et TERAOKA (1956). Nous avons d'ailleurs observé des germinations bipolaires ou latérales (Pl. V, fig. C, D - Pl. VI, fig. C, D), précédées ou non d'un cloisonnement de la spore. Nous avons surtout constaté une germination apiculaire (Pl. V, fig. C).

Lors de la germination, les spores ne se trouvent pas nécessairement isolées, mais elles peuvent demeurer réunies par leurs couches mucilagineuses, ce qui, aussi bien au microscope photonique qu'au microscope électronique à balayage, leur confère un aspect en « régime » (Pl. VI, fig. C). Les mêmes spores fraîches,

* Des problèmes ont été signalés concernant certaines allergies des muqueuses nasales des travailleurs. Ces irritations sont provoquées par la dispersion des spores dans les locaux où l'on pratique la culture industrielle de ce champignon (ZADRAZIL 1972; observations personnelles).

non germées, hydratées et encore reliées à leurs stérigmates, présentent cette même configuration, en tétrades ou en «régime» selon le nombre de spores assemblées, et quelque soit le nombre de stérigmates considérés (Pl. VI, fig A; Pl. VII, fig. A, C).

Au microscope électronique à balayage, une spore naturellement déshydratée montre un aspect différent de celui d'une spore hydratée (Pl. VII, fig. A, B, D). De plus, lorsque des spores déshydratées se présentent en groupes de deux, quatre ou davantage, l'ensemble constitue un corps irrégulièrement orné (Pl. VII, fig. B) où l'on devine à peine les traces de leur union. En revanche, les spores encore gonflées montrent bien leur morphologie réelle malgré le mucilage qui les unit les unes aux autres.

Une hydratation normale et convenable des spores, ainsi que des éléments sporoides, s'observe en découpant des parties de chair et de lames, en conditions stériles, et en les laissant, à la température du laboratoire, pendant une douzaine d'heures; de cette façon les cellules des hyphes de la chair et de la trame des lames se plasmolysent et ne germent pas, ce qui facilite les recherches au niveau de l'hyménium (MELENDEZ-HOWELL 1967). Le tout est ensuite déposé dans un cristallisateur sur milieu de culture (maltea gélosée à 2 %) pendant quelques heures. Les éléments de reproduction gonflent alors, des plus jeunes aux plus âgés. Les morceaux du champignon sont transférés sur lamelle ronde et fixés aux vapeurs d'acide osmique. Ils sont ensuite séchés à température ambiante et préparés pour observation (MELENDEZ-HOWELL et CAILLEUX 1969).

Cette technique nous a permis d'établir une relation entre les images de «régimes» sporaux germés ou non germés et celles, différentes, des corps sporaux, dont l'aspect collapsé peut être dû à l'observation soit d'exsiccata, soit de matériel imparfaitement regonflé. Les images de spores isolées ou des groupes de spores encore attachées à leurs stérigmates en apportent la confirmation.

Structures sporoides

En ce qui concerne les conidies, les différents auteurs ont hésité sur leur localisation et sur leur mode de formation, ainsi que sur leur identification avec les basidiospores. PATOUILARD (1880, 1881) a trouvé sur des échantillons développés dans de mauvaises conditions naturelles (froid rigoureux), des «poils du chapeau» terminés par une ou deux «spores» plus ou moins ovoïdes; celles-ci ne devaient pas être confondues avec les renflements en boule du sommet de certains types de cystides; songeant à une «plasticité» dans la différenciation des hyphes de l'hyménium, il s'interroge sur les rapports entre les conidies et les basidiospores chez le Pleurote. D'ailleurs HECKEL (1881) affirme avoir précédé PATOUILARD dans ces découvertes (sur *P. glandulosus* Fr., monstruosité du *P. ostreatus* ss. Pat.). Pour LEARN (1912), il s'agit chez le *P. ostreatus*, d'oidies produites à partir du mycélium. VANDENDRIES (1934) décrit des conidies haploïdes («oidies») et diploïdes («spores») venant sur «un rameau conidiophore spécial chez *P. pinsitus*». Enfin, TERAOKAWA (1956) ne parle pas de conidies, mais de «gouttes de mucus» formées sur différents points d'un hyménium stérile. Les éléments fertiles seraient constitués par les hyphes dont le bourgeonnement direct se traduit par la formation d'un mycélium bouclé, outre la présence des basides et des spores normales.

Nous pensons aujourd'hui avoir élucidé quelque peu le problème, ayant constaté l'existence de véritables structures plus ou moins ovoïdes, lesquelles prennent naissance, d'une part sur les hyphes du mycélium (Pl. IV, fig. D, E, F), d'autre part sur les éléments de l'hyménium (Pl. III, fig. C). Celles qui, dans nos cultures en tubes, se produisent directement sur le mycélium, sont issues d'un système d'hyphes possédant des anses d'anastomose (mycélium dicaryotique) (Pl. IV, fig. F). Celles qui se produisent sur l'hyménium sont le produit de basides ou de cystides normales ou altérées, ou encore de simples hyphes amorphes encore non différenciés. De telles variations dans les hyphes hyméniennes et leurs produits ont été plusieurs fois décrites chez les Basidiomycètes (HEIM 1932, MALENÇON 1935, MELENDEZ-HOWELL 1964). Dans le cas du *P. ostreatus*, les modifications des éléments de l'hyménium peuvent aller depuis la formation d'une baside normale tétrasporique conduisant à des basidiospores normales (Pl. III, fig. B, E; Pl. VI, fig. A, B) jusqu'à la formation d'une baside cloisonnée, possédant parfois des stérigmates latéraux, le tout souvent morphologiquement disparate (Pl. V, fig. A, B; Pl. VIII, fig. b à f). Le nombre de stérigmates peut varier de 1 à 4. Ils peuvent se montrer boursoufflés, ou donner naissance à un mycélium immédiatement ramifié ou non (TERAKAWA 1956). Quant aux cystides, nous constatons, comme LANGE (1938), leur existence sur des carpophores normaux et anormaux, contrairement aux affirmations de KONRAD et MAUBLANC (1937) et ROMAGNESI (1969); PATOUILLARD parle tantôt de véritables cystides (1881), tantôt de leur absence (1880). Les anomalies des cystides consistent en un renflement sporoiide net (Pl. VIII, fig. b) placé sur le col.

La morphologie des spores varie d'elliptique (forme normale) à plus ou moins sphérique, pouvant parfois bourgeonner aussitôt (Pl. VIII, fig. j, n). Leur paroi s'avère épaisse et des spores ovoïdes peuvent se trouver assemblées par du mucilage. Ces dernières, ainsi que les structures, également ovoïdes, formées directement sur le mycélium, ont en commun aussi bien les dimensions (4-5 μ m de diamètre) (Pl. III, fig. C; Pl. IV, fig. A et F) que le nombre de noyaux (1 ou 2).

Chez nos Pleurotes, nous avons toujours trouvé des anses d'anastomose (mycélium dicaryotique) sur les hyphes conduisant à la formation des éléments de reproduction normaux ou altérés. Nous avons constamment remarqué la présence de ces structures ovoïdes dans le carpophore et sur le mycélium de nos souches, dans nos conditions de travail au laboratoire. Dans la nature, certains des échantillons révèlent des modifications des éléments de l'hyménium ainsi que la présence des corps ovoïdes, mais d'autres carpophores à spores elliptiques se montrent parfaitement typiques. Sans doute, les conditions de culture ou certaines conditions défavorables à la reproduction dans la nature entraînent de telles variations.

Chlamydospores

Normalement, le carpophore du *P. ostreatus* ne possède pas de poils, mais une humidité élevée peut provoquer l'apparition, sur le chapeau, d'un duvet plus ou moins épais dû à la prolifération des hyphes externes; nous avons d'ailleurs constaté l'élongation de ces hyphes en plaçant des carpophores entiers, dans des conditions stériles, directement sur le milieu de culture (maltea gélosée à 2 %)

contenu dans des boîtes de Pétri profondes. La prolifération de ces hyphes conduit très souvent à la formation de chlamydospores, mais ces éléments sont toujours sphériques, contrairement à la morphologie plus ou moins ovoïde des «conidies» décrites par PATOUILLARD; leurs dimensions varient entre 3 et 5 μm et elles sont ornées. La chlamydospore apparaît comme un élément apparemment haploïde produit sur des hyphes ne possédant pas de boucles et se formant, de préférence dans le cas de nos Pleurotes, aux extrémités de ces hyphes allongées (Pl. III, fig. D). Les chlamydospores germent facilement et ne produisent que du mycélium primaire, prêt à son tour à se reproduire au moyen de chlamydospores. TERAOKAWA a observé la germination des hyphes de l'hyménium, mais la présence des structures sporoides lui a échappé. Nous n'avons pas vu, non plus, les oïdies dont parle LEARN.

Etant donné d'une part l'«affolement» dans la différenciation des hyphes de l'hyménium, dont le résultat est la formation de corps sporoides, et d'autre part la formation directe, à partir du mycélium, des structures ovoïdes, il peut s'agir dans les deux cas de spores dont la morphologie et la production ont été modifiées par les circonstances.

Nous avons donc constaté l'existence de trois types d'éléments de reproduction chez les espèces étudiées : des basidiospores normales, issues de l'hyménium; des corps sporoides hyméniaux et mycéliens; et des éléments de type chlamydospore. L'utilisation conjuguée des diverses méthodes (microscope électronique à balayage, microscope photonique, colorations, contrôle des germinations des éléments reproducteurs) nous ont permis de mieux comprendre les relations et les différences existantes entre eux. Toutefois, des recherches génétiques dans ce sens doivent encore être effectuées pour préciser leur véritable nature.

CONCLUSIONS

L'observation de la morphologie des carpophores en culture semi-stérile et les précisions apportées sur les exigences thermiques de la fructification, obligatoirement basses pour certaines souches (13°C), moins strictes pour les autres (13° à 25°C), ont permis de distinguer six types différents parmi les vingt-cinq souches étudiées.

D'autres expériences, utilisant des critères d'ordre physiologique tels que les exigences nutritives pour la croissance et la fructification, ont conduit au même regroupement en six types, confirmant la validité des groupes établis. Ceux-ci correspondent à des formes systématiques diverses, mal définies si l'on se réfère aux seules descriptions usuelles, mais à propos desquelles des études comparatives, fondées sur des cultures en conditions contrôlées, apportent des précisions qui permettent de séparer le *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quél., le *Pleurotus ostreatus* var. *colombinus* Quél., le *Pleurotus salignus* Fr. et le *Pleurotus pulmonarius* Fr.

D'autre part, ces cultures mettent en évidence l'influence des composants du milieu nutritif sur l'évolution mycélienne et sur la fructification :

ANNEXE : BILAN DES CARACTERISTIQUES GENERALES DES TYPES DEFINIS PARMI LES SOUCHES ETUDIEES

TYPE	Comportement sur le milieu de méléta	Comportement sur les milieux à sources d'azote variables	Comportement sur les milieux à sources de carbone variables	Température de fructification : sur milieu pauvre : lieux
A	Mycelium blanc, abon- dant cotonneux, très aérien; croissance et fructification rapides :	Bonne croissance mycelienne sur tous les milieux, mais préférence pour le sulfate d'ammonium. Fructification précoce sur tous les milieux sauf sur la sérine où elles se développent mal	très bonne croissance sur le maltose et le saccharose, bonne sur les autres mi- lieux sauf sur l'amidon. Fructification : sur tous sauf sur l'amidon où elle est : très diminuée	Ne fructifie plus : au dessus de 15°
B	semblable au type A	Excellente fructification sauf sur la sérine	très bonne croissance sur le xylose, bon : ne sur le reste des milieux. Fructifica- : tion, sur tous les milieux	Ne fructifie plus : au dessus de 15°
C	semblable au type A	très bonne croissance sur tous les milieux sauf sur le sulfate d'ammonium. L'ac. aspartique est défavorable à la fructification, ainsi que la sérine	Bonne croissance en général, mais ralentie sur l'amidon. La souche n° 40 fructifie sur tous les milieux, les autres souches du type restent stériles	Ne fructifie plus : au dessus de 15°
D	Mycelium rampant, flo- conneux, granuleux, à croissance lente. Fruc- tification plus tardive :	Le sulfate d'ammonium et l'ac. aspartique ralentissent la croissance. Sur les autres milieux, la croissance est inférieure au témoin. Fructification normale : sauf sur la sérine	Mauvaise croissance mycelienne et mau- vaise fructification	Capable de fructi- fier au dessous de 15°
E	Mycelium aggrégé en cor- donnets blanchâtres, croissance lente, ne fructifie pas	Mauvaise croissance sur tous les milieux : fructification normale sur la sérine et l'aspartagine	Mauvaise croissance sur tous les milieux : mauvaise fructification sauf sur le maltose	Capable de fructi- fier au dessous de 15°
F	Mycelium cotonneux, aé- rien, croissance rapide : Ne fructifie pas	Croissance pauvre, néanmoins préférence pour l'acide aspartique et pour la pepsine. Fructification uniquement sur la : peptone	Mauvaise croissance sauf sur le xylose : et le glucose. Bonne fructification sur tous les milieux	Capable de fructi- fier au dessous de 15°

- le milieu de maltea gélosée favorise la croissance du mycélium dans tous les cas, mais n'est pas propice à la fructification des types D, E et F.

- l'apport de diverses sources de carbone et d'azote conduit à des résultats variables (récapitulation dans l'Annexe) cependant il apparaît que l'addition de sources d'azote, sous des formes différentes, favorise la fructification tandis que l'apport de sources de carbone variées provoque une croissance mycélienne plus active.

- les souches étudiées se révèlent être peu aptes à utiliser la lysine et le nitrate de sodium.

- l'adjonction d'azote ou de carbone, sous des formes différentes, au milieu pailleux, améliore la fructification de certaines souches.

Les résultats obtenus permettent de rattacher nos souches au groupe III de la classification de ROBBINS (1937), c'est à dire de les ranger parmi les organismes capables d'utiliser l'azote sous forme de composés organiques ou de composés ammoniacaux, mais qui n'emploient pas l'azote libre, ni les nitrates.

Parallèlement aux essais culturaux, l'étude morphologique des carpophores a révélé certaines particularités des éléments de reproduction. Les observations au microscope photonique et au microscope électronique à balayage, qui précisent la présence de «conidies» déjà signalées par PATOUILLARD en 1880 chez le *P. ostreatus*, démontrent l'existence, outre des basidiospores, de corps sporoïdes issus soit de l'hyménium, soit du mycélium, et d'éléments de type chlamydospores chez toutes les formes étudiées.

Pour compléter cet aperçu morphologique et biologique des éléments de reproduction, des études génétiques et physiologiques poussées seraient nécessaires pour établir plus clairement les relations et les différences existant entre eux.

La culture des Pleurotes, qui a maintenant atteint le stade de la production alimentaire, se heurte encore à des difficultés inhérentes à la connaissance insuffisante de leur biologie. Nous espérons qu'une partie de nos résultats, en particulier ceux relatifs aux exigences thermiques et au comportement des divers taxons, pourront aider à réaliser des cultures plus rationnelles et plus productives. Ces expériences nous ont aussi montré combien l'étude de la biologie de certaines espèces ou groupes d'espèces peut être profitable à la systématique.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON N.A., WANG S.S. et SCHWAND J.W., 1873 — The *Pleurotus ostreatus* - *sapidus* species complex. *Mycologia* 65 : 28-35.
- ASCHAN K., 1952 — The production of fruit bodies in *Collybia velutipes*. I - Influence of different culture conditions. *Physiol. Plant.* 7 : 571-591.
- ATKINSON G.F., 1901 — *Mushrooms, Edible, Poisonous etc.* The Post Express Printing Co. Rochester. N.Y., p. 104.
- BERKELEY M.J., 1860 — *Outl. of Brit. Myc.* J. Edward Taylor, Printer. London, p. 134.
- BLOCK S., TSAO G. et LUNGWA H., 1958 — Production of Mushrooms from sawdust. *J. Agr. Food Chem.* 6 : 923-927.
- BLOCK S., TSAO G. et HAN L., 1959 — Experiments in the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Mush. Sci.* 4 : 309-325.

- BRESADOLA J., 1928 — *Iconographia Mycologica. Soc. Bot. Ital. Milano* 5 : 276-298.
- BULLER A.H.R., 1924 — *Researches on Fungi*. Longmans, Green and Co., London, T.3, p. 477.
- CAILLEUX R., DIOP A. et MACAYA-LIZANO A., 1973 — Quelques variations du *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet précisées par la culture. *C.R. Acad. Agric.* 59 (12) : 971-976.
- CAILLEUX R., DIOP A. et MACAYA-LIZANO A., 1974 — *Pleurotus ostreatus* et formes affines : comportement cultural, influence des sources carbonées et azotées sur le développement mycélien et la fructification. *Mushr. Sci.* (sous presse).
- COCHRANE V.W., 1958 — *Physiology of Fungi*. John Wiley and Sons Inc. New York, p. 1-300.
- CONSTANTIN M.J., 1891 — Étude sur la culture des basidiomycètes. *Rev. Gen. Bot.* 3 : 497-511.
- COOKE B.W.H., 1968 — Carbon/Nitrogen relationships of fungus culture media. *Mycopath. et Myc. Appl.* 34 (3-4) : 305-315.
- EGER G. 1973 — Altes und Neues über die Kultivierung von *Pleurotus ostreatus*. *Der Champignon* 141 : 7-12.
- ETTER B.E., 1929 — New media for developing sporophores of wood-rot fungi. *Mycologia* 21 : 197-203.
- EUGENIO C.P. et ANDERSON N.A., 1968 — The genetics and cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia* 60 : 627-634.
- FOSTER J.W., 1949 — *Chemical activities of Fungi*. Academic Press Inc. Publishers. New York, p. 27-74, 148-183 et 481-528.
- FRIES E., 1821 — *Systema Mycologicum* 4 : 187.
- FRIES L., 1955 — Studies in the physiology of *Coprinus*. I. Growth substance, nitrogen and carbon requirements. *Svensk Bot. Tidskr.* 49 : 475-535.
- GYURKO P., 1971 — Die Rolle der Belichtung bei dem Anbau des Austernseitlings (*Pleurotus ostreatus*). *Mush. Sci.* 8 : 461-469.
- HACSKAYLO J., LILLY V.G. et BARNETT H.I., 1954 — Growth of fungi on three sources of N. *Mycologia* 46 : 691-701.
- HAWKER L.E., 1942 — The effect of vitamin B1 on the concentration of glucose optimal for the fruiting of certain fungi. *Ann. Bot. (G.B.)* 6 : 631-636.
- HECKEL E., 1881 — Remarques à propos de la note de M. Patouillard sur les conidies de *P. ostreatus* Fr. *Rev. Mycologique* 10 : 9.
- HEIM R., 1932 — La formation des spores chez les *Podaxon*. *C.R. Acad. Sci. CXIV* : 1182-1184.
- HEIM R., 1957 — *Les champignons d'Europe*. N. Boubée et Cie, Paris. T.2, p. 220-227.
- IMPENS R., 1967 — Recherches sur la croissance du mycélium de *Volvariella volvacea* var. *Massei* Sing. I. pH, sources de carbone et d'azote, réaction de Maillard. *Bull. Rech. Agron. Gembloux (Belgique)* 2 (4) : 685-706.
- JACQUIN N.J., 1773 — *Florae Austriacae*. T.2, Tab. 104.
- JOLY P., 1964 — *Le genre Alternaria*. Encyclopédie Mycologique XXXIII. Ed. P. Lechevalier Paris, p. 31-39.
- JOLY P., JOLY F. et BUI-THU-CUC, 1971 — Essais d'application de méthodes de traitement numérique des informations systématiques. VI. Étude cinétique de la croissance mycélienne chez les champignons. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 37 (4) : 657-674.
- KLIOUSHNIKOVA E., WIATKINA A., WASSILIEN A. et ZUKERMAN P., 1935 — Mushroom culture, kinds of manure, races of *Psalliota campestris* and spore germination. *Wiss. Ber. Moskauer Staatsuniversität* 4 : 216-265.
- KOCH W., 1958 — Untersuchungen über Mycelwachstum und Fruchtkörperbildung bei einigen Basidiomyceten (*Polystictus versicolor*, *Polyporus annosus*, *Pleurotus ostreatus* und *Psalliota bisporea*). *Arch. Mikrobiol.* 30 : 409-432.
- KONRAD P. et MAUBLANC A., 1924-1937 — *Icones selectae Fungorum*. Ed. Paul Lechevalier, Paris, T. 6, p. 352-375.

- KUEHNER R. et ROMAGNESI, 1953 — *Flore analytique des champignons supérieurs*. Masson et Cie, Paris, p. 71-73.
- LANGE E., 1935-1940 — *Flora Agaricina Danica*. Recato Publ. Copenhagen. T.2, p. 64-74.
- LEARN C.D., 1912 — Studies on *Pleurotus ostreatus* Jacq. and *P. Ulmarius*. *Bull. Ann. Myc. Sydow*. 10 : 543-556.
- LEONIAN L.H. et LILLY V.G., 1938 — Studies on the nutrition of fungi. I. Thiamin, its constituents and the source of nitrogen. *Phytopath.* 28 : 531-548.
- LEONIAN L.H. et LILLY V.G., 1940 — Studies on the nutrition of fungi. IV. Factors influencing the growth of some thiamin-requiring fungi. *Amer. J. Bot.* 27 : 18-26.
- LILLY V.G. et BARNETT H.L., 1951 — *Physiology of the fungi*. Mc Graw Hill Book Co. Inc. N.Y., 464 p.
- LONG W. et HARSCH R.M., 1918 — Pure cultures of wood rotting fungi on artificial media. *J. Agr. Research* 12 : 33-82.
- MALENÇON G., 1935 — Étude sur les Phellorinés. *Ann. Crypt. Exot.* 8 (1-2) : 22-29 et 114-118.
- MANDELS G.R., 1965 — Kinetics of fungal growth (in AINSWORTH et SUSSMAN, *The Fungi* T.1 : 599-612).
- MATRUCHOT L., 1910 — Essais de culture des champignons lignicoles. *La culture des champ. comestibles* 42 : 674-676.
- MAUBLANC A. et VIENNOT-BOURGIN G., 1959 — *Les champignons de France*. Ed. Paul Lechevalier, Paris, T.2, 283 p.
- MELLENDEZ-HOWELL L.M., 1964 — Un nouveau cas de bourgeonnement et de polymorphisme chez les Agarics. *Rev. Myc.* 29 (5) : 315-325.
- MELLENDEZ-HOWELL L.M., 1967 — Recherches sur le pore germinatif des Basidiospores. *Thèse Fac. des Sc. de l'Univ. de Paris*, p. 494-500.
- MELLENDEZ-HOWELL L.M. et CAILLEUX R., 1969 — Nouvelle technique appliquée à l'observation des germinations sporales par stéréoscan. *Journ.de Microsc.* 8 (4) : 69a.
- NISHIKADO Y. et MIYAWAKI Y., 1943 — Principles of artificial propagation of *Pleurotus ostreatus*, Hiratake Mushroom. *Rep. Ohara Agric. Inst.* 35 : 481-484.
- PATOUILLARD N., 1880 — Sur l'appareil conidial du *Pleurotus ostreatus*. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 27 : 125.
- PATOUILLARD N., 1881 — Sur quelques nouveaux modes ou peu connus de reproduction secondaire chez les Hymenomycètes. *Rev. Myc.* 10 : 10-12.
- PAULET G., 1793 — *Traité des champignons*. Impr. du Louvre, Paris, t.1, 629 p.
- PECK C.H., 1886 — New York Species of *Pleurotus*, *Claudopus* and *Crepidotus*. *N.Y. State Mus. Nat. Hist. Rept.* 39 : 58-67.
- PERSOON C.H., 1801 — *Synopsis Methodica Fungorum*. p. 476-479.
- PERSOON C.H., 1828 — *Mycologia Europea*, Sectio III, p. 42-50.
- QUÉLET L., 1888 — *Flore mycologique de la France et des pays limitrophes*. Ed. Octave Doin, Paris. 492 p.
- QUÉLET L., 1886 — *Echiridion Fungorum in Europa Media*. p. 148-149.
- ROBBINS W.J., 1937 — The assimilation by plants of various forms of nitrogen, *Ann. Journ. Bot.* 24 : 243-250.
- ROBBINS W.J., 1950 — A survey of the growth requirements of some basidiomycètes. *Mycologia* 42 : 470-476.
- ROMAGNESI H., 1969 — Sur les *Pleurotus* du groupe *ostreatus* (*Ostreomyces* Pilat). *Bull. Soc. Myc. Fr.* 85 (3) : 295-304.
- ROMAGNESI H., 1970 — *Petit Atlas des champignons*. Ed. Bordas, Paris, T.2, p.213.
- RYAN F.J., BEADLE G.W. et TATUM E.L., 1943 — The tube method of measuring the growth rate of *Neurospora*. *Ann. J. Bot.* 30 : 784-799.
- SACCARO P.A., 1925 — *Sylloge Fungorum*. T.23, p. 113-121.
- SINGER R., 1962 — *The Agaricales in Modern Taxonomy*. J. Cramer Publish. New York, p. 164-169.
- STEINBECK H., 1973 — Zur Geschichte der Austernseitlingskultur. *Der champignon* 140 : 5-7.

- STEINBERG R.A., 1939 — Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. *Bot. Rev.* 5 : 327-350.
- STEINBERG R.A., 1950 — Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. *Bot. Rev.* 16 : 208-228.
- TERAKAWA H., 1956 — Studies on morphogenesis in *Pleurotus ostreatus*. *Sc. Pap. Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo* 6 (1) : 61-87.
- TOOLE E.R., 1966 — Comparison of two methods for inoculating Nuttall oaks (*Quercus nuttallii*) with *Pleurotus ostreatus*. *Plant. Wis. Report* 50 : 552-553.
- TOUZE-SOULET J.M., 1964 — Morphogénie et métabolisme de deux hypomyces. *H. chrysospermus* vivant en saprophyte et *H. chlorinus* en parasite sur *Boletus edulis*. *Thèse Fac. des Sc. de l'Univ. de Toulouse*, 122 p.
- TRESCHOW C., 1944 — Nutrition of the cultivated mushroom. *Danskbot. Arkiv.* 11 : 180.
- TSAO G.T., 1963 — Production of oxalic acid by a wood-rotting fungus. *Appl. Microbiol.* 11 : 249-255.
- VANDENDRIES R., 1933 — De la valeur du barrage sexuel : *Pleurotus ostreatus*. *Genetica* 15 : 202-212.
- VANDENDRIES R., 1934 — La polarité sexuelle et le régime conidien chez *Pleurotus pinsitus*. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 50 : 203-212.
- VESSEY E., 1969 — Culture industrielle des champignons sylvestres en Hongrie. *Rev. Myc.* 34 (2-3) : 7-108.
- VOLTZ P.A., 1972 — Nutritional studies on species and mutants of *Lepista*, *Cantharellus*, *Pleurotus* and *Volvariella*. *Mycopath. et Myc. Appl.* 48 : 175-185.
- VOLTZ P.A. et BENEKE E., 1969 — Nutritional regulation of basidiocarp formation and mycelial growth of Agaricales. *Mycopath. et Myc. Appl.* 37 (3) : 225-253.
- YUSEF H.M., 1953 — The requirements of some Hymenomycetes for essential metabolites. *Bull. Torrey Bot. Club* 80 : 43-64.
- YUSEF H.M. et ALLAM M., 1967 — The carbon and nitrogen nutrition of certain fungi. *Can. J. Microbiol.* 13 (8) : 1097-1106.
- ZADRAZIL F., 1973 — *Pleurotus* Sporen Allergie. *Der champignon* 143 : 9-10.

EXPLICATION DES PLANCHES

ABRÉVIATIONS : c s : corps sporoïde. — hy : hyménium. — s n : spore normale. — tr : trame. — ch : chlamydospores. — cl : cloison. — b a : baside anormale. — my : mycélium. — an : anse d'anastome. — g s h : groupe de spores hydratées. — g s g : groupe de spores germées. — g u : germination unipolaire. — g b : germination bipolaire. — g a : germination apicale. — a p : apicule. — s h : spore hydratée. — s n h : spore non hydratée.

Planche I — Fig. A à D : pleurotes des types A, B, C et D sur milieu pailleux en conditions semi-stériles : A, B et D : 1 cm = 2,1 cm; C : 1 cm = 2,5 cm.

Planche II — Fig. A et B : pleurotes du type E, obtenus sur milieux pailleux, conditions semi-stériles : A, à marge retournée : 1 cm = 2,1 cm; B, à marge étalée : 1 cm = 2,5 cm. Fig. C : pleurotes du type F, forme spatulée : 1 cm = 2,1 cm.

Planche III — Fig. A : chapeau et pied du *P. ostreatus* obtenu en culture pure en tube à essai : 1 cm = 110 μ m. Fig. B et E : coupes à main levée pratiquées dans une lame à éléments normaux : B, 1 cm = 46 μ m; E, 1 cm = 21 μ m. Fig. C : coupe à main levée dans une lame à éléments hyméniaux anormaux : 1 cm = 8,5 μ m. Fig. D : mycélium issu de la germination du revêtement du chapeau et conduisant à la formation de chlamydospores : 1 cm = 18 μ m.

Planche IV — Fig. A, B et C : corps sporoïdes produits par l'hyménium. Remarquer la cloison du stérigmate sur la fig. A ($1\text{ cm} = 2,3\text{ }\mu\text{m}$) et les anomalies hyméniennes (surtout fig. C; coupe à main levée : $1\text{ cm} = 8,5\text{ }\mu\text{m}$). Les corps sporoïdes de la fig. B (microscope photonique, coupe à la paraffine : $1\text{ cm} = 8,5\text{ }\mu\text{m}$) correspondent aux corps sporoïdes de la fig. A (microscope électronique à balayage). Fig. D, E et F : corps sporoïdes issus directement du mycélium. A remarquer l'anse d'anastomose sur la fig. F.
D : $1\text{ cm} = 63\text{ }\mu\text{m}$; E : $1\text{ cm} = 2,3\text{ }\mu\text{m}$; F : $1\text{ cm} = 2,3\text{ }\mu\text{m}$.

Planche V — Fig. A : groupe de basides et spores anormales constituant un tout morphologiquement disparate ($1\text{ cm} = 2,1\text{ }\mu\text{m}$). Fig. B : basides anormales. A gauche : les stérigmates et les spores de la baside sont normaux : $1\text{ cm} = 2,3\text{ }\mu\text{m}$. Fig. C : germination sporales unipolaire, bipolaire et apicale, observées au microscope optique : $1\text{ cm} = 18\text{ }\mu\text{m}$. Fig. D : germination bipolaire observée au microscope électronique à balayage : $1\text{ cm} = 15\text{ }\mu\text{m}$.

Planche VI — Fig. A : Quatre spores normales, hydratées, groupées et attachées à leurs stérigmates ($1\text{ cm} = 2,1\text{ }\mu\text{m}$). Fig. C : spores germées, groupées en « régime » ($1\text{ cm} = 5,8\text{ }\mu\text{m}$). Fig. B : quatre jeunes spores normales, hydratées et attachées à leurs stérigmates ($1\text{ cm} = 1,1\text{ }\mu\text{m}$). Fig. D : germination unipolaire : remarquer l'apicule ($1\text{ cm} = 1,5\text{ }\mu\text{m}$).

Planche VII — Fig. A et C : spores normales hydratées, groupées et liées par leur mucilage. Celui-ci apparaît renforcé et délimitant les spores de façon totale ou partielle (A : $1\text{ cm} = 1\text{ }\mu\text{m}$, C : $1\text{ cm} = 2,1\text{ }\mu\text{m}$). Fig. B : spores normales groupées, non hydratées. Leur identité est moins aisée à reconnaître que dans le cas des fig. A et C ($1\text{ cm} = 1,2\text{ }\mu\text{m}$). Fig. D : spore normale, isolée, non hydratée ($1\text{ cm} = 0,5\text{ }\mu\text{m}$).

Planche VIII — Fig. b à j : éléments anormaux de l'hyménium; a et k : cystide et baside normales; l et m : spores normales; n à q : corps sporoïdes ($1\text{ cm} = 4,2\text{ }\mu\text{m}$).

o
o o

Photos macroscopiques : R. CAILLEUX; photos microscopie photonique : M. RICARD, A. MACAYA; photos microscopie électronique à balayage : les préparations ont été effectuées avec la collaboration de Mlle L.M. MELENDEZ-HOWELL; tirage des photos : R. HACCARD, R. CAILLEUX.

Nous remercions M. le Professeur LAFFITE et Mlle D. NOEL qui ont permis d'utiliser le microscope électronique à balayage du Laboratoire de Géologie (M.N.H.N., Paris) ainsi que M. J.P. BOSSY, chargé d'en assurer le fonctionnement.

PLAN DU MÉMOIRE

MATÉRIEL ET MÉTHODES	4
I. Souches	4
II. Milieux de culture	6
a) milieux utilisés pour les expériences en conditions semi-stériles . . .	6
b) milieux utilisés pour les expériences en conditions stériles	6
III. Conditions de culture	8
a) expériences en conditions semi-stériles	8
b) expériences en conditions stériles	8
c) techniques cytologiques	8
COMPORTEMENT CULTURAL	9
I. Fructification en conditions semi-stériles	9
1. Conditions d'étude	9
2. Résultats et discussion	9
3. Conclusions	12
II. Croissance et fructification en tube à essais	12
1. Le choix de critères physiologiques	12
a) l'aspect morphologique	12
b) la croissance mycélienne	12
2. Influence des sources azotées et carbonées sur le développement mycélien et la fructification	17
a) milieu témoin	17
b) sources d'azote	18
c) sources de carbone	20
d) discussion et conclusions	21
III. Fructification en conditions semi-stériles sur milieux additionnés de sources azotées et carbonées	28
1. Conditions d'étude	28
2. Résultats et discussion	28
3. Conclusions	29
IV. Incidences systématiques	30
ÉLÉMENTS DE REPRODUCTION	33
CONCLUSIONS	36
Annexe : bilan des caractéristiques générales des types définis parmi les souches étudiées	37
Bibliographie	38

